

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



Bc. Lucie Štefanská

Vliv magnetických polí na explorační chování hlodavců

Magnetic field effects on exploration behaviour of rodents

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Pavel Němec, PhD.

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14. 8. 2014

.....

Lucie Štefanská

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat svému školiteli Mgr. Pavlovi Němcovi, PhD. za pomoc a finanční podporu práce a své rodině, svým přátelům za podporu a své Alma mater.

Tato práce byla součástí projektu podpořeného GA UK, č. 116510/2010.

Obsah:

1. Magnetorecepce živočichů
2. Magnetorecepce třídy Mammalia
3. Orientace živočichů pomocí magnetického pole
 - 3.1 Magnetický kompas
 - 3.2 Magnetický mapový systém
 - 3.3 Role magnetorecepce při orientaci živočichů na krátkých vzdálenostech
 - 3.4 Magnetický alignment
4. Mechanismy magnetorecepce
 - 4.1 Mechanismus založený na magnetitu
 - 4.2 Mechanismus radikálových párů (RP)
 - 4.2.1 Vlastnosti magnetorecepce, které jsou spojovány s mechanismem RP
 - 4.2.2 Vliv radiofrekvencí oscilujících (elektro) magnetických polí na mechanismy RP
5. Doklady magnetorecepce u hlodavců (Rodentia)
 - 5.1 První studie
 - 5.2 Magnetorecepce podzemních hlodavců
 - 5.3 Magnetorecepce nadzemních hlodavců
6. Vliv změn v přirozeném magnetickém poli na živočichy
 - 6.1 Rušení magnetické orientace živočichů
 - 6.2 Ostatní vlivy magnetických polí na fyziologii a chování živočichů
7. Cíl práce
8. Materiál a metodika
9. Statistické zpracování magnetických dat
10. Výsledky
11. Diskuse
12. Závěr
13. Literatura

MAGNETORECEPCE ŽIVOČICHŮ

Termín magnetorecepce lze definovat jako schopnost živočichů detekovat magnetické pole a dále využívat směrové či poziční informace, které poskytují hodnoty jeho parametrů na daném místě v prostoru.

Přes prvotní skepsi vůči existenci tohoto fenoménu v počátcích jeho studia, máme v současné době k dispozici již velké množství dat, které jasně dokládají, že schopnost detekovat magnetické pole není v živočišné říši záležitost nijak ojedinělá (shrnuť např. ve Wiltschko a Wiltschko 2005). Popsána byla u zástupců různých, fylogeneticky velmi vzdálených, skupin: z bezobratlých živočichů například u karibské langusty (*Panulirus argus*) (Lohmann, Pentcheff a kol. 1995, Boles a Lohmann 2003) a u různých druhů hmyzu (Hexapoda) souhrnný článek zaměřený na magnetorecepci eusociálního hmyzu (Wajnberg, Acosta-Avalos a kol. 2010), mezi obratlovci zejména u různých druhů ptáků (Wiltschko and Wiltschko 2005), ale i u obojživelníků (Philipps 1986; Phillips, Adler a kol. 1995), mořských želv (Lohmann 1991; Light, Salmon a kol 1993; Lohmann a Lohmann 1996). Zřejmě nejméně toho zatím víme o magnetorecepci savců, nicméně i mezi zástupci této třídy byla schopnost detekovat magnetické pole opakovaně popsána (recentně shrnuť v Begall, Burda a kol. 2014).

Přes velký pokrok dosažený v posledních dvou dekadách, není stále jasné, jakým mechanismem živočichové získávají informace z magnetického pole. Přesto z mnoha experimentů vyplývá, že stejně jako jiné podněty z okolí rozpoznávané ostatními smysly, mohou jeho podmínky modulovat chování živočichů. Převážná většina informací o magnetorecepci pochází z etologicky zaměřených prací. Hlavním cílem prvních experimentů, jejichž výsledky poukázaly na existenci magnetorecepce u zvířat, bylo zjistit, jakým způsobem určují migrující ptáci správný směr letu k cíli v podmínkách, kdy nemohou využít jiných orientačních vodítek. Například když nemohou během oblačných nocí rozeznat polohu hvězd na obloze. Přestože hypotéza o využití magnetického pole ptáky byla vznesena mnohem dříve, první testy přesvědčivě demonstrující jejich magnetickou orientaci, byly provedeny na konci 60. let minulého století (shrnuť v Wiltschko a Wiltschko 1995). Prvním obratlovcem, u kterého byla schopnost magnetorecepce experimentálně doložena, se tak stal migrující pěvec, červenka obecná *Erithacus rubecula* (Wiltschko 1966, Wiltschko 1968).

Následně byly publikovány další práce s obdobným designem experimentů. Typické uspořádání testu prostorové orientace v magnetickém poli sestává z arény (obvykle kruhové) umístěné v aparatuře systému cívek umožňující měnit nezávisle na sobě jednotlivé parametry

magnetického pole (Obr. např). Výhodou takto koncipovaných testů prostorové orientace je, že lze sledovat okamžitý efekt podmínek magnetického pole.

Orientaci v prostoru lze dobře testovat v případě, že zvíře vykazuje spontánní tendenci vykonávat směrově orientovanou aktivitu. Například u migrujících ptáků je možné pozorovat tzv. tahový neklid (*zugunruhe*), kdy je jasně patrná jejich snaha letět směrem na zimoviště (nebo naopak zpět na místo hnízdění). Využití magnetorecepce při určování směru pohybu k cíli migrační cesty, bylo popsáno u nemalého počtu tažných druhů ptáků (Wiltschko a Wiltschko 2005), a také například u anadromě táhnoucího zástupce paprskoploutvých ryb lososa nerky (Quinn 1980), u mořských želv (Lohmann 1991), nebo recentně u motýla *Danaus plexippus* (Guerra, Gegear a kol. 2014).

Schopnost orientace pomocí magnetického pole Země však byla popsána i živočichů, kteří nemigrují, například u rypose druhu *Fukomys Ansellii* (Burda, Marhold a kol. 1990), a dokonce i u domestikovaných forem některých obratlovců, například u domácích holubů *Columba livia* (Walcott a Green 1974) nebo u kura domácího *Gallus gallus* (Freire, Munro a kol. 2005). Testování magnetorecepce u zvířat, která během svého života nevykonávají cestu směrem k určitým, geograficky víceméně přesně lokalizovaným cílům, může být nicméně poněkud komplikovanější. Problém může představovat především nedostatek motivace testovaných zvířat k vykonávání aktivity, při níž by bylo možné jejich orientační schopnosti sledovat a hodnotit. S tím souvisí i fakt, že zatímco vnitřní vyladění k migrační cestě, jehož projevem je zmíněný migrační neklid, je natolik silné, že víceméně nedochází k maskování směrové preference jinak motivovaným chováním, u zvířat bez takovéto silné motivace, může být chování výrazně ovlivněno mnoha vnitřními i vnějšími faktory, které mají potenciál sledované, směrově orientované chování rušit. Nicméně pro každého pohybujícího se živočicha je důležité se nějakým způsobem orientovat v prostoru. Při testování orientace je pak třeba „pouze“ vědět, v jaké situaci má zvíře přirozeně potřebu se orientovat a podle toho vytvořit adekvátní design experimentu. Případně je možné (s větším či menším úspěchem) takovou potřebu ve zvířeti vyvolat. Spontánní směrová preference však může lépe dokumentovat kdy, nebo za jakým účelem živočich magnetické pole využívá. Motivací k směrově orientovanému pohybu může být snaha vrátit se zpět do svého domovského teritoria nebo do hnízda. Do vzdálenějších míst od těchto přirozených cílů se zvíře dostane buď při přirozených, víceméně pravidelných cestách například za potravou, nebo po umělém přemístění v experimentu. Snaha pohybovat se zpět ke svému teritoriu bývá označována jako *homing*. Tato tendence spolu s dobrou schopností orientace je dobře známá u domácích holubů, které lze zároveň dobře natrénovat tak, aby preferovali určitý směr letu, a poté

testovat jejich schopnost určit správný směr. Hezký příklad experimentu postaveném na procesu učení prostřednictvím klasického podmiňování, představuje test magnetorecepčních schopností holuba popsáný v recentně publikované práci (Mora a Bingman 2013). Výsledky této práce ukázaly vysokou citlivost testovaných ptáku ke změnám intenzity magnetického pole (833 nT za s).

MAGNETORECEPCE TŘÍDY MAMMALIA

Také mnozí savci (Mammalia) během svého života překonávají velké vzdálenosti při cestách za potravou nebo na místa rozmnožování. Známé jsou například dlouhé plavby velryb (Cetacea, Mysticeti). I když se nabízí hypotéza, že migrující kytovci využívají tzv. magnetický kompas nebo magnetickou mapu (Kirsch, Dizon a kol. 1986; Klinowska 1988; Walker, Kirschvink a kol. 1992), její ověření není snadné a dostatečně přesvědčivé doklady magnetorecepce u těchto zvířat nemáme. Je ovšem pravdou, že o jejich způsobu navigace toho víme obecně dosti málo, a není vyloučeno, že právě magnetické pole Země je její součástí (Horton, Holdaway a kol. 2011). Naproti tomu ti savci, jejichž schopnost magnetorecepce již byla dobře zdokumentována (viz dále), dlouhé migrační cesty nepodnikají.

Poprvé byla magnetorecepce u zástupců savců dostatečně průkazně doložena v 90. letech minulého století. Konkrétně u podzemních hlodavců z čeledi rypsovitých (Bathergidae). Výsledky experimentů dalších studií pak ukázaly, že magnetické pole může k orientaci v prostoru sloužit i hlodavcům z jiných čeledí, a že se nejedná pouze o výsadu fossoriální druhů (Burda, Marhold a kol. 1990; Marhold, Burda a kol. 1991; Deutschlander, Freake a kol. 2003; Muheim, Edgar a kol. 2006; Oliveriusová, Němec a kol. 2012; Oliveriusová, Němec a kol. 2014). Důležitým poznatkem je též závěr, že hlodavci dokáží využít magnetorepce při lokální orientaci za účelem dosažení určitých cílů v daném prostředí (Kimchi a Terkel 2001; Phillips, Youmans a kol. 2013).

Přestože pomyslný soupis všech savců, u kterých byla magnetorecepce doposud doložena, není příliš obsáhlý, hlodavci zdaleka nejsou jediným řádem této skupiny, jež zahrnuje živočišné druhy, u nichž byly projevy orientace v prostoru závislé na magnetickém poli pozorovány. Magnetický kompas byl dále popsán u letounů (Chiroptera). U dvou druhů těchto savců byla magnetorecepce testována při homingu *Eptesicus fuscus* (Holland, Thorup a kol. 2006) a *Myotis myotis* (Holland, Borissov a kol. 2010). U asijského netopýra druhu *Nyctalus plancyi* (Wang, Pan a kol. 2007) byl zvolen jiný přístup. V laboratorních podmínkách

byla sledována poloha míst, které si netopýři vybírali ke spánku. Ukázalo se, že poloha těchto míst byla závislá na natočení hlavního vektoru magnetického pole v experimentální aparatuře. Nelze si nevšimnout nápadné konvergence letounů s ptáky. Některé druhy též podnikají migrační lety na dlouhé vzdálenosti. Mohlo by se zdát, že magnetický kompas je jednou z konvergentních vlastností, která je užitečná především při přesunu na delší vzdálenosti. Nicméně jen relativně malý počet druhů z početného řádu letounů podniká dlouhé migrační cesty.

Poněkud odlišným projevem magnetorecepce je magnetický alignment popsáný u dalších zástupců savců: u pasoucích se sudokopytníků (Artiodactyla) z čeledi turovitých (Bovidae) (Begall, Červený a kol. 2008; Begall, Burda a kol. 2011; Slabý, Tomanová a kol. 2013) a jelenovitých (Cervidae) (Begall, Červený a kol. 2008), a dále u zástupců šelem (Carnivora), konkrétně u lišek (*Vulpes vulpes*) (Červený, Begall a kol. 2011) a domácích psů (*Canis lupus f. familiaris*) (Hart, Nováková kol. 2013). Tak jako je schopnost magnetorecepce rozšířená mezi živočichy z různých fylogenetických skupin, bez ohledu na způsob jejich života, není ani u savců tato schopnost doménou pouze migrujících druhů, či pouze druhů pohybujících se od svého hnízda do velmi vzdálených míst. A přestože savci mohou obvykle využívat širokou škálu orientačních vodítek, ukazuje se, že i magnetické pole může hrát roli v jejich prostorové orientaci. Jak velkou a v jakém přesně kontextu není stále jasné.

ORIENTACE ŽIVOČICHŮ POMOCÍ MAGNETICKÉHO POLE ZEMĚ

Většina živočichů je během života nucena sledovat určité cíle v prostoru. Ať už se jedná o hledání partnera, potravy, vhodného místa pro stavbu hnízda, nebo třeba hledání cesty na zimoviště, včasné dosažení cíle je pro život jedince nebo jeho potomků mnohdy zcela zásadní. Živočichové musí být k řešení takových situací přizpůsobeni. V průběhu evoluce se organismy adaptují na prostředí, ve kterém žijí, proto můžeme například sledovat různé modifikace pohybového aparátu. Pro dosažení daného cíle v prostoru a celkovou efektivitu pohybu v prostředí je však kromě optimalizace způsobu samotné lokomoce nezbytná také schopnost orientace. Tato potřeba je zajištěna řadou mechanismů. Efektivita orientace živočichů dosahuje užitím různých orientačních strategií, a jejich kombinací. Způsob orientace je dán vzdáleností cíle cesty, a podmínkami okolního prostředí. Schopnost využít nezávisle více zdrojů směrové či poziční informace je užitečná i z toho důvodu, že ne vždy je každý zdroj dostupný.

Při pohybu na dlouhé vzdálenosti, pokud se živočich nenachází v bezprostřední blízkosti svého cíle a nemá s ním kontakt (například vizuální), musí nejprve určit, jakým směrem se má k dosažení cíle pohybovat, a potom musí tento směr udržovat. Situace tedy vyžaduje dva kroky, které popisuje koncept mapy a kompasu (Kramer 1961). Koncept je založen na analogii mezi orientací živočichů a způsobem orientace člověka, který běžně využívá různé plánky, mapy, kompas a v dnešní době i GPS (dále shrnuto též v Gould 1982; Wiltschko 2003). Obecně se však pojem mapy může vztahovat k odlišným schopnostem živočicha. Ve známém prostředí si zvíře vytváří kognitivní prostorovou mapu (O'Keefe and Nadel 1978) a využívá známých orientačních bodů, kdežto v neznámém prostředí může svou polohu, respektive směr, kterým se má pohybovat, určit též pomocí gradientů složek prostředí. Magnetické pole může živočich potencionálně využít jak při „kompasové orientaci“, tak při „orientaci pomocí mapy“.

MAGNETICKÝ KOMPAS

Efektivní navigace vyžaduje udržování správného směru pohybu k cíli. Zatímco navigace pomocí mapového systému nemusí být mnohdy pro živočichy příliš důležitá, třeba v případě, že spoléhají na vrozenou směrovou preferenci (mladé červenky například jednoduše „vědí“, že mají na podzim letět z místa svého rodného hnízda na jih), v pořadí druhý krok konceptu mapy a kompasu {Gould 1982; Kramer 1961}, tedy navigace pomocí mechanismu kompasu, má pro všechny živočichy pohybující se (nejen) na dlouhých vzdálenostech zásadní význam. Během kompasové orientace může živočich využít informace ze dvou hlavních „informačních zdrojů“, které přirozené prostředí poskytuje. Jedním z těchto zdrojů je obloha, respektive pohyb nebeských těles, Slunce a hvězd. V době stmívání a před východem Slunce, nebo v případě oblačné denní oblohy, kdy Slunce není na obloze vidět, mohou někteří živočichové, obratlovci i bezobratlí, k orientaci využít též polarizované světlo (Horváth 2004; Marshall, 1999). Mezi savci byla schopnost vnímat směr polarizovaného světla a orientovat se podle něj popsána u netopýra velkého (*Myotis myotis*) (Greif, Borissov a kol. 2014). Pomocí čeho se však může živočich orientovat v noci, kdy hvězdy nejsou viditelné? Nejen v takové situaci může být zdrojem pozičních informací druhý zdroj směrových informací - geomagnetické pole. Protože se jedná o zdroj všudypřítomný, v čase téměř neměnný, a informace, které poskytuje, jsou neustále k dispozici, není příliš překvapivé, že řada živočichů skutečně využívá mechanismus magnetického kompasu (Wiltschko a Wiltschko 2005). Bylo však zjištěno, že ne všichni se pomocí magnetického kompasu orientují stejným způsobem, a i díky tomu se předpokládá, že tento způsob orientace může být zprostředkován různými mechanismy

(shrnutí též v {Wiltschko 2005}). Na základě behaviorálních testů v podmínkách experimentálně změněných magnetických polí můžeme u různých živočichů sledovat projevy orientace, které svým charakterem odpovídají buď polaritnímu magnetickému kompasu (funguje obdobně jako „technický“ kompas), nebo inklinálnímu magnetickému kompasu („axiálnímu“)

Polaritní magnetický kompas

Živočichové, u nichž byla pozorována orientace pomocí polaritního kompasu, dokáží rozlišit polaritu vektoru magnetického pole a jejich orientace je nezávislá na světle {Burda 1990; Marhold 1991; Quinn 1980; Quinn 1981; Wang 2007}. Tyto vlastnosti polaritního kompasu jsou hlavními důvody, proč je spojován s magnetorepcí zprostředkovanou biogenním magnetitem (recentně shrnuto např. ve Wiltschko 2013).

Inklinální magnetický kompas

Naproti tomu živočichové spoléhající se při orientaci na mechanismus inklinálního kompasu detekují jen inklinaci, sklon celkového vektoru magnetického pole vůči rovině povrchu Země. Jedná se o axiální informaci, tato zvířata nedokáží rozlišit polaritu magnetického pole. Rozlišují pouze směr k rovníku a směr k pólu, nikoliv severní a jižní směr. Orientace pomocí inklinálního magnetického kompasu je většinou závislá na světle (srov. s Lohmann 1993). I proto se za mechanismus, který zvířeti umožňuje rozlišit pouze inklinaci, považuje magnetorepce založená na mechanismu radikálových párů (shrnutí např. v Phillips 2010).

Je třeba poznamenat, že u některých živočichů, jako např. u ptáků (Wiltschko a Wiltschko 2005), byly pozorovány oba zmíněné způsoby orientace. Ačkoliv na světle nezávislý mechanismus má spíše charakter fixní směrové preference, která se více podobá alignmentu, než kompasové orientaci (Stapput 2008; Wiltschko 2009).

MAGNETICKÝ MAPOVÝ SYSTÉM

Gradient vytvářejí například mořské nebo vzdušné proudy, pachy nebo parametry geomagnetického pole – inklinace a indukce. Tyto parametry přirozeného pole se v prostoru mění víceméně predikovatelně, v závislosti na zeměpisné šířce, lokálně, v některých oblastech, i v závislosti na zeměpisné délce (Lohmann, Lohmann a kol. 2007). Tzv. magnetický mapový systém nebo jednoduše magnetická mapa je termín používaný ve spojitosti se

schopností některých zvířat detekovat hodnoty těchto parametrů, a využít je ke zjištění důležitých pozičních informací. Indukci i inklinaci může živočich teoreticky využívat buď samostatně, nebo ve spojení s jiným orientačním vodítkem. Dále je teoreticky možné, aby k určení polohy použil současně indukci i inklinaci. Detekce obou parametrů dohromady se uplatní zejména v situaci, kdy charakter magnetické pole v určitém geografickém místě slouží jako orientační značka, kterou si zvíře může uložit do paměti v průběhu života, nebo v situaci, kdy slouží jako spouštěč, na který zvíře reaguje vrozenou reakcí, například změnou směru pohybu v daném místě, tak jako to bylo dokumentováno u juvenilních jedinců migrující karety obecné *Caretta caretta* (Lohmann, Cain a kol. 2001). Předpokladu, že si svou magnetickou mapu mohou někteří živočichové vytvářet během života, odpovídají recentně publikované výsledky orientačních testů červenky obecné (*Erithacus rubecula*) (Holland a Helm 2013) provedené v období podzimní migrace těchto ptáků. Zatímco mladí jedinci vydávající se na zimoviště poprvé nebyli ovlivněni silným magnetickým pulzem, kterému byli před letem vystaveni, a po vypuštění udržovali správný směr k cíli cesty (jejich směr pohybu se nelišil od směru jedinců z kontrolní skupiny), starší ptáci byly po vystavení pulzu dezorientováni. Chování ptáků odpovídalo již dříve pozorovaným odlišnostem v navigačních strategiích juvenilních jedinců v porovnání s jedinci zkušenými (Perdeck 1958; Munro 1997). Zároveň studie podporuje následující hypotézy: mladí, nezkušení ptáci nepoužívají magnetickou mapu k určení směru k cíli migrace, ale orientují se na základě vrozené směrové preference, která je specifická pro danou populaci a sezónu (podzim vs. jaro); naopak zkušené ptáci spoléhají při orientaci na magnetickou mapu, která zahrnuje poziční informace získávané detekcí intenzity magnetického pole mechanismem založeným pravděpodobně na částicích biogenního magnetitu. Otázky týkající se reálného využití magnetické mapy živočichy jsou však stále otevřené, a sami autoři uvedené studie (Holland a Helm 2013) připouštějí, že orientace starších jedinců může být ovlivněna jiným způsobem. Zkušení ptáci mohou příkladně jinak využívat informace získané magnetickým kompasem (Wiltschko a Wiltschko 2009). Schopnost pravé navigace (Lohmann, Lohmann a kol. 2007) založená na magnetickém mapovém systému byla nicméně popsána u holubů (*Columba livia f. domestica*) (Walcott a Schmidt-Koenig 1973, Gould 1982), u langusty karibské (*Panulirus argus*) (Boles a Lohmann 2003), čolka zelenavého (*Notophthalmus viridescens*) (Phillips, Adler a kol. 1995) a u mořských želv (Lohmann, Lohmann a kol. 2004).

ROLE MAGNETORECEPCE PŘI ORIENTACI ŽIVOČICHŮ NA KRÁTKÝCH VZDÁLENOSTECH

Na krátkých vzdálenostech (short-distance/topographic navigation) se uplatňují dva základní typy prostorové orientace – allothetická a idiothetická (shrnutí např. v Klatzky 1998). Allothetická orientace je založená na informacích získaných z vnějšího prostředí. Naproti tomu idiothetická orientace zvířeti umožňuje orientaci relativně nezávislou na vnějším prostředí (Etienne a Jeffery 2004). Dále můžeme rozlišit, zda jsou poziční informace vztahovány k vlastní poloze v prostoru, pak hovoříme o tzv. egocentrickém referenčním rámci, nebo zda se živočich orientuje pomocí vztahů různých prostorových značek bez ohledu na svojí polohu, pak se jedná o allocentrický referenční rámec.

U obratlovců je idiothetický typ navigace možný především díky vestibulárnímu systému, který zpracovává informace o samotném pohybu zvířete, například o natočení těla nebo o rychlosti jeho pohybu. Nezanedbatelnou roli při tzv. integraci dráhy (path integration, též dead reckoning), jak je tento způsob orientace označován, též hrají proprioreceptory. Pro některé živočichy může být rozpoznávání správné cesty na základě vlastního pohybu velmi důležité, zvláště pro zvířata žijící trvale v prostředí, kde obvykle nejsou k dispozici jiná orientační vodítka. Jedná se tedy zejména o fossoriální živočichy. Jako typický příklad lze uvést rypose (Bathergidae, Rodentia). Nicméně samotná idiothetická orientace není dostačující. Během cesty postupně narůstá nepřesnost odhadu směru i vzdálenosti, proto je nutná „kalibrace“ kognitivní prostorové mapy, kterou si zvíře utváří během pohybu (O'keefe and Nadel 1978), pomocí pozičních informací z vnějšího prostředí (Stuchlik, Fenton et al. 2001). Téměř ideálním zdrojem takových informací může být v prostředí jinak chudém na podněty z okolního prostředí magnetické pole Země (Moritz, Burda et al. 2007). Obecně není příliš jasné, jakou roli hraje magnetorecepce při orientaci ve známém prostředí, jak často je v něm využívána a v jakém kontextu.

MAGNETICKÝ ALIGNMENT

Pozice živočichů v prostoru často není náhodná. Natočení jejich těla může být ovlivněno mnoha faktory. Například v rámci apentenčního chování je tímto faktorem snaha vyhledat určitý cíl, který pochopitelně může určovat i směr pohybu živočicha. Obecně lze tvrdit, že postoj živočicha ovlivňuje prostředí. Kromě umístění zdroje potravy, výskytu partnera či přítomnosti predátora může být postoj živočicha ovlivněn také abiotickými

environmentálními faktory. Zejména atmosférické jevy nebo postavení Slunce může ovlivnit, kde bude živočich odpočívat, jak se postaví, aby přijímal co nejvíce tepelné energie, nebo odolával efektivněji poryvům větru. Spontánní natočení těla označuje termín alignment. Někdy je alignment na první pohled patrný a dobře vysvětlitelný – například ryby mohou čelním natočením proti proudu vody v řece snižovat velikost hydrodynamické odporové síly, která působí na jejich tělo, a zároveň profitovat z přílivu částic potravy a okysličené vody (rheo-alignment). Jindy však preference určitého směru nemusí tak zřejmá a snadno zdůvodnitelná, jako v případě magnetického alignmentu (Begall, Malkemper a kol. 2013).

Na rozdíl od kompasové orientace není projevem magnetického alignmentu chování motivované dosažením určitého cíle. Za další znak magnetického alignmentu, kterým se odlišuje od „pravé“ orientace pomocí magnetického kompasu, bývá považován bimodální nebo dokonce kvadrimodální charakter směrové preference živočicha. To znamená, že zvíře ve skutečnosti nepreferuje pouze jeden směr – např. neupřednostňuje postavení čelem k severu, ale natáčí své tělo v určitém směru. Často je to tak, aby jeho předozadní osa byla rovnoběžná s některou z hlavních os magnetického pole (Begall, Malkemper a kol. 2013).

Závěry nových studií recentně podpořily existenci tohoto fenoménu u obratlovců (např. Hart, Kušta et al. 2012) a dokonce i u savců (viz dále). Výsledky experimentů a pozorování životních projevů živočichů, které byly v souladu s hypotézou magnetického alignmentu, však byly publikovány již dříve. Konkrétně byl v té době popsán magnetický alignment u některých zástupců hmyzu, například u včely medonosné (*Apis mellifera*) z řádu blanokřídlých (Hymenoptera), nebo u octomilky obecné (*Drosophila melanogaster*) z řádu dvoukřídlých (Diptera) (Vácha, 2010); starší studie shrnuty v (Wiltschko a Wiltschko 1995).

Popsána byla také spontánní směrová preference všekazů (řád Isoptera) nápadně kopírující směry hlavních os magnetického pole Země (uvedeno také v Wiltschko and Wiltschko 1995). Už na první pohled je patrné, že termitiště některých druhů vykazují nenáhodnou orientaci v prostoru, typicky u australských všekazů rodu *Amitermes*. Přestože se může jednat o výsledek přizpůsobení se abiotickým faktorům (Jacklyn 1992), výsledky testů realizovaných v laboratorních podmínkách (Becker 1976), kde nebyl přítomen žádný gradient světla či tepla, i testů provedených přímo v terénu (Jacklyn a Munro 2002) doložily, že některé druhy všekazů skutečně vykazují spontánní směrovou preferenci při stavbě hnízda, která je závislá na orientaci vektoru okolního magnetického pole (Becker 1976). Magnetický alignment by tedy mohl představovat adaptivní vlastnost umožňující všekazům postavit hnízdo tak, aby bylo vhodně vystaveno slunečnímu záření. Taktéž se však může

jednat o naučenou kompasovou orientaci, které předchází asociace podnětů z okolí s podnětem získaným magnetorecepcí.

Již v minulosti byla „axiální“ orientace vykazující charakter magnetického alignmentu popsána také u některých zástupců ryb (Wiltschko a Wiltschko 1995). A zvláště v poslední dekádě pak hypotézu, že geomagnetické pole může vyvolávat spontánní směrovou preferenci živočichů, podpořilo několik dalších studií zaměřených na obratlovce, včetně savců. Magnetický alignment byl popsán na základě pozorování spontánní směrové preference u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) (Hart, Kušta a kol. 2012), přistávajících kachen divokých (*Anas platyrhynchos*) (Hart, Malkemper a kol. 2013) a zástupců běžně se vyskytujících sudokopytníků (Begall, Červený a kol. 2008; Begall, Burda a kol. 2011; Slabý, Tomanová a kol. 2013), tura domácího, jelena evropského a srnce obecného, během odpočinku a pastvy. Další savci, u nichž byl magnetický alignment také doložen, patří do řádu šelem. U lovicích lišek byla popsána tendence útočit přednostně výskokem orientovaným směrem na sever nebo severovýchod (Červený, Begall a kol. 2011). Jako signifikantní se navíc ukázala závislost mezi úspěšností lovu a směrem útoku. V tomto konkrétním případě se přímo nabízí koncept magnetického alignmentu jako adaptivní vlastnosti zvířat. Podle autorů (Červený, Begall a kol. 2011) by schopnost orientovat se pomocí magnetického pole mohla liškám pomáhat lépe lokalizovat drobné obratlovce ukryté ve vysoké trávě nebo pod sněhem, a následně přesněji nasměřovat poslední fázi lovu, kterou představuje rychlý výpad na kořist. Díky recentně publikované práci (Hart, Nováková a kol. 2013) se soupis živočichů, u nichž byl popsán magnetický alignment, rozšířil také o domácího psa (*Canis lupus f. domestica*). Význam projevů odpovídajících o vysoké citlivost psů k magnetickému poli není zřejmý.

MECHANISMY MAGNETORECEPCE

MECHANISMUS ZALOŽENÝ NA MAGNETITU

Od doby, kdy byl objeven biogenní magnetit v radule mořských měkkýšů náležejících do třídy chroustnatek (Polyplacophora) (Lowenstam 1962), u kterých však plní „pouze“ strukturní funkci, byl jeho výskyt popsán u mnoha dalších živočichů (Gould, Kirschvink a kol. 1978; Walcott, Gould a kol. 1979; Walker, Kirschvink a kol. 1984) včetně savců (Buchler a Wasilewski 1985; Mather 1985; Kirschvink, Kobayashi-Kirschvink a kol. 1992). Prvním organismem, u něhož bylo sledováno využití krystalů biogenního magnetitu k směrově orientovanému pohybu v prostoru pomocí magnetického pole, byla „magnetotaktická bakterie“ *Magnetospirillum magnetotacticum* (Blakemore 1975). U bakterií se samozřejmě

nejedná o orientaci, jakou máme na mysli, když hovoříme o orientaci živočichů s rozvinutou nervovou soustavou. Nicméně právě magnetotaxe bakterií mohla být prvním krůčkem v evoluci magnetorecepce založené na mechanismu magnetitových částic (Kirschvink, Walker a kol. 2001).

Existuje poměrně velké množství výsledků behaviorálních experimentů, svědčících pro zapojení magnetitu do magnetorepce živočichů (Kirschvink, Walker a kol. 2001). Také výsledky několika neurofyzilogických a neuroetologických studií, které byly zaměřeny na magnetorepce ptáků (Beason a Semm 1987, Semm a Beason 1990, Mora, Davison a kol. 2004) a ryb (Diebel 2000; Eder 2012; Walker 1997, ukazují, že do detekce magnetického pole jsou zapojeny neurony inervující oblasti předpokládaného umístění magnetoreceptorů obsahujících magnetitové částice. Detailní fungování tohoto typu mechanismu magnetorepce však není jasné a navrženy byly pouze teoretické modely, které počítají s různým uspořádáním a vlastnostmi krystalků magnetitu ve strukturách sloužících jako magnetoreceptory (Kirschvink a Gould 1981; Kirschvink, Walker a kol. 2001; Davila, Fleissner a kol. 2003; Solov'yov a Greiner 2007; Winklhofer a Kirschvink 2010).

V magnetorepce živočichů se hypoteticky mohou uplatnit větší jednodoménové krystaly, jejichž velikost se pohybuje kolem 50 nm, nebo menší supraparamagnetické částice velké přibližně 3 - 5 nm. Jednodoménové krystaly si udržují stálý magnetický moment, který sice lze změnit působením silného magnetického pulzu, nicméně po přepólování (v závislosti na charakteru pulzu) si krystaly opět udržují stálý, nově získaný, magnetický moment. Naproti tomu supraparamagnetické částice jsou příliš malé pro udržení stabilního magnetického momentu. Proto se jejich polarita mění v závislosti na okolním magnetickém poli. Oba typy částic se teoreticky mohou podílet na magnetorepce, ať už samostatně, kdy supraparamagnetické částice mohou být uspořádány v samostatných shlucích, nebo společně. Přítomnost obou typů částic byla v živočišných tkáních popsána (Walcott, Gould a kol. 1979; Mann, Sparks a kol. 1988; Diebel, Proksch a kol. 2000; Hanzlik, Heunemann a kol. 2000; Williams a Wild 2001). Například u holuba byly postupně identifikovány jak jednodoménové krystaly lokalizované v nasální oblasti hlavy (Williams a Wild 2001), tak shluky supraparamagnetických částic v podkoží horní části zobáku (Hanzlik, Heunemann a kol. 2000). Ačkoliv byly podobné shluky supraparamagnetických částic nalezeny i u dalších druhů ptáků (shrnutí v Wilschko a Wilschko 2013), a v kontextu magnetorepce se zdá být zajímavý jejich výskyt v blízkosti dendritů oftalmické větve trojklanného nervu (Winklhofer, Holtkamp-Rötzler a kol. 2001; Fleissner, Holtkamp-Rötzler a kol. 2003; Fleissner, Stahl a kol. 2007), recentní studie jejich roli v detekci magnetického pole výrazně zpochybnila (Treiber,

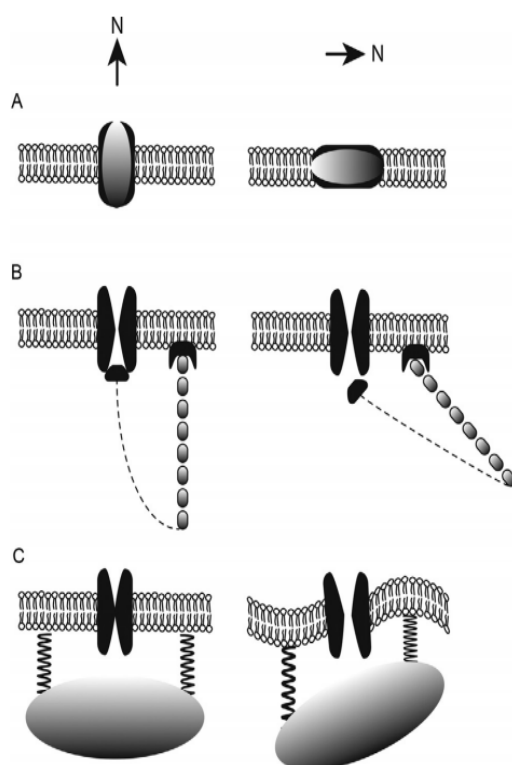
Salzer a kol. 2012). Výsledky podrobné analýzy ukázaly, že shluky feromagnetického biogenního materiálu jsou s největší pravděpodobností ve skutečnosti intracelulární částice imunitních buněk, makrofágů. Také výsledky teoretického hodnocení těch supraparamagnetických částic, jejichž výskyt v ptačím zobáku byl doposud popsán, nepodpořily předpoklad, že se jedná o struktury podílející se na magnetorecepci (Jandačka, Alexa a kol. 2013). Tento závěr ale nevylučuje zapojení jiných biogenních magnetických částic, které mohou být buď přímo v zobáku ptáků, nebo i na jiných místech v těle ptáků. Navržena byla například možnost lokalizace magnetoreceptoru ve vnitřním uchu, v lageně (Wu a Dickman 2011, Wu a Dickman 2012). I přesto, že právě ve vnitřním uchu několika druhů ptáků byla recentně popsána přítomnost feromagnetických částic, jejich zapojení do magnetorecepce není možné v současné době objektivně posoudit (Lauwers, Pichler a kol. 2013).

VLASTNOSTI MAGNETORECEPCE, KTERÉ JSOU SPOJOVÁNY S MECHANISMEM ZALOŽENÝM NA BIOGENNÍM MAGNETITU (shrnuje např. v Wiltschko a Wiltschko 2013):

- nezávislost na světle;
- detekce polarity vektoru magnetického pole, předpoklad detekce jeho intenzity
- magnetorecepce typu - polaritní magnetický kompas/magnetická mapa;
- možnost ovlivnění silným magnetickým pulzem;
- předpoklad rezistence vůči rušení orientace radiofrekvenčními elektromagnetickými poli;

Ačkoliv většina dostupných informací pochází ze studií zaměřených na magnetorecepci ptáků, i u některých dalších obratlovců, v jejichž tkáních byla identifikována přítomnost krystalů magnetitu (nebo maghemitu), byl doložen typ magnetorecepce odpovídající výše zmíněným charakteristikám. Dobře zdokumentována je orientace ryb, u kterých byl také učiněn přímý nález jednodoménových krystalů magnetitu, konkrétně např. u ryb z čeledi lososovitých (Mann, Sparks a kol. 1988; Walker, Quinn a kol. 1988; Walker, Diebel a kol. 1997; Diebel, Proksch a kol. 2000). Kromě nasální oblasti na hlavě byly magnetitové částice u některých ryb nalezeny i v tkáních jiných částí těla (Harada 2008; Moore a Riley 2009). Spolehlivější výsledky svědčící pro zapojení částic magnetitu do detekce magnetického pole u savců přinesla pouze studie zaměřená na netopýry (Tian, Lin a kol. 2010), u nichž behaviorální experimenty taktéž ukázaly schopnost magnetorecepce vykazující charakter polaritního kompasu (Holland, Thorup a kol. 2006; Wang, Pan a kol. 2007). A dále také studie, v rámci které byly identifikovány částice magnetitu v rohovce oka u hlodavce *Fukomys anselli*, z čeledi

rypošovitých (Bathyergidae) (Wegner, Begall a kol. 2006). Zástupci této skupiny vykazují schopnost orientovat se pomocí magnetického pole způsobem, jež odpovídá konceptu polaritního kompasu.



Magneroceptory založené na biogením magnetitu

Obrázky představují tři navrhované modely magnetoreceptivních struktur a způsoby jakými by mohlo docházet k přenosu zachycených signálů (z magnetického pole) na buněčné úrovni. Různé typy částic mohou být hypoteticky různě spojeny s dvouvrstevnou buněčnou membránou.

A) Magnetitová částice začleněná přímo v buněčné membráně může měnit její elektrické vlastnosti v závislosti na svém natočení, které je dáno okolním magnetickým polem. Změna struktury membrány, způsobující změny její vodivosti, je dána přítomností delších nevodivých úseků kolem magnetitové částice. (Kirschvink a Gould 1981)

B) Model předpokládající spojení řetězce jednodoménových magnetitových částic s iontovými kanály v buněčné membráně. Natočení řetězce závislé na okolním magnetickém poli způsobí otevření/zavření iontových kanálů, se kterými je spojen pomocí filament. (Walker, Dennis a kol. 2002, Winklhofer a Kirschvink 2010)

C) Model deformace membrány. Shluk magnetitových částic je filamenty napojen na buněčnou membránu na několika místech. Tlak, který je vyvíjen na membránu prostřednictvím těchto spojení, je závislý na okolním magnetickém poli. Dochází k deformaci membrány a tím i k otevření iontových kanálů. (Solov'yov a Greiner 2007)

Obrázek převzat z: Magnetoreception in Mammals
Begall, S., a kol. (2014)

MECHANISMUS RADIKÁLOVÝCH PÁRŮ

První úvahy o magnetorepci zprostředkované fotopigmenty byly publikovány již v 70. letech minulého století, poté co byl pozorován vliv magnetických polí na radikálové chemické reakce (např. Schulten, Staerk a kol. 1976; Leask 1977). O něco později byl navržen model,

který se stal základem hypotézy magnetorecepce zprostředkované mechanismem, jehož podstatou je působení magnetických polí na biochemické děje, při nichž vznikají radikálové páry (Schulten 1982, Schulten a Windemuth 1986). Koncept chemického kompasu, jak je tento způsob magnetorecepce také nazýván, je založen na interakci magnetického pole s organickými makromolekulami, které se účastní reakce, při níž jedna makromolekula (donor) předává elektron druhé makromolekule (akceptor), a dochází tak vytvoření radikálového páru – každá z molekul má jeden nepárový elektron. Molekuly radikálového páru se teoreticky mohou nacházet ve dvou stavech souvisejících se spiny jejich nepárových elektronů. Ty mohou být vůči sobě orientovány antiparalelně - molekuly se nacházejí ve stavu singletu, nebo paralelně - molekuly se nacházejí ve stavu tripletu. V tu chvíli do hry (podle zvažovaného modelu) vstupuje okolní magnetické pole. Orientace a velikost jeho vektoru může ovlivnit přechod mezi stavy radikálových párů (singlet vs. triplet), a změnit tak výtěžek celkové reakce. Produkty reakce mohou být teoreticky zapojeny do signálních kaskád umožňujících detekci magnetického pole, nebo mohou být propojeny přímo s vizuální percepcí (živočich by pak mohl magnetické pole hypoteticky přímo „vidět“ – Obr.) (Ritz, Adem a kol. 2000).

K uvolnění elektronu z elektronového obalu molekuly, která je v reakci donorem, může dojít až poté, co je tato molekula uvedena do excitovaného stavu. Příkladem biogenních makromolekul účastnících se reakcí, při nichž dochází k jejich excitaci, jsou fotoreceptivní proteiny. K jejich aktivaci (excitaci), která představuje uvolnění elektronu, nebo změnu konformace, dochází přijetím energie dopadajícího fotonu. Jedná se tedy o excitaci světlem, typicky však pouze světlem v určitém rozmezí vlnových délek, dle absorpčního spektra daného proteinu. Mezi kandidátní molekuly, které by mohly zprostředkovat magnetorepceci byl v minulosti řazen například fotoreceptivní protein rhodopsin nebo iodopsin (Schulten a Windemuth 1986). Ty však netvoří radikálové páry. Při detailnější formulaci hypotézy chemického kompasu (Ritz, Adem a kol. 2000; Ritz, Ahmad a kol. 2010) byl za klíčovou kandidátní molekulu zprostředkující magnetorepceci označen fotoreceptivní protein kryptochrom, který po přijetí fotonu dává vzniknout radikálovým párům, a v mnoha ohledech lépe odpovídá předpokladům zvažovaného modelu „chemického magnetického kompasu“ (recentně shrnuto v Dodson, 2013).

Kryptochromy jsou evolučně velmi konzervativní flavoproteiny - obsahují prostetickou skupinu flavinadenindinukleotid (FAD) (Liedvogel a Mouritsen 2010). Kromě této skupiny je jejich druhým kofaktorem chromofor zachycující světelné záření v rozsahu vlnových délek odpovídajících modré části světelného spektra. Struktura kryptochromů dále

vypovídá o jejich příslušnosti k proteinové superrodině zahrnující fotolyázy. Jejich přítomnost byla popsána jak v buňkách rostlin, tak v buňkách mnohých bezobratlých živočichů i obratlovců. Prakticky ve všech buňkách organismů se podílejí na řízení cirkadiánních rytmů. Přestože byly nalezeny i v cytosolu buněk, u živočichů se kryptochromy typicky vyskytují hlavně v buněčných jádrech, kde působí jako transkripční faktory. Jejich role je podstatná jak pro fungování „centrálních biologických hodin“, která jsou lokalizována v suprachiasmatických jádrech hypotalamu, tak pro řízení buněčných cyklů mimo CNS. Jako fotoreceptory, které však nejsou zapojeny do procesu samotné vizuální percepce, jsou kryptochromy přítomny v retině, ale také v pineálním orgánu (epifýze). Pineální orgán má funkci fotoreceptivní orgánu některých obratlovců vyjma savců. Předpokládaná role kryptochromů v magnetoreceptci a jejich vlastnosti jsou podrobněji shrnuty např. ve studiích Rodgers a Hore 2009, Liedvogel a Mouritsen 2010).

Přestože výsledky teoretických (např. Maeda, Henbest a kol. 2008) i experimentálních (shrnuto např. v Phillips, Muheim a kol. 2010) studií opakovaně podpořily hypotézu magnetorecepce umožněnou působením magnetického pole na reakci, při které vznikají radikálové páry (dále jen mechanismus radikálových párů – mechanismus RP), i roli kryptochromů (Gegear, Casselman a kol. 2008; Foley, Gegear a kol. 2011) v detekci magnetického pole, jedná se spíše o nepřímé doklady charakteru primárního magnetoreceptoru.

Detailnější popis mechanismu chemického kompasu stále nemáme a mnoho dostupných informací pochází pouze z teoretických výpočtů. Kromě toho, že není úplně jasné, jaký je primární mechanismus detekce magnetického pole na fyzikálně-chemické úrovni, nevíme také, jak dochází k přenosu signálu získaného primárními magnetoreceptory.

Alternativní scénáře mechanismu RP, které se liší od původního modelu (Ritz, Adem a kol. 2000; Ritz, Ahmad a kol. 2010) v popisu některých dílčích kroků procesu magnetorecepce, zvažují například odlišný signální stav kryptochromů, ve kterém dochází k detekci magnetického pole (Nießner, Denzau a kol. 2013), nebo zapojení jiných radikálových párů (např. Gegear, Foley a kol. 2010, Müller a Ahmad 2011). Od původního modelu, podle kterého umožňuje přenos informace o směru vektoru magnetického pole chemická signální dráha, se liší také model Stonehama a jeho kolegů (2012). Signál, který je přijat prostřednictvím kryptochromů, je podle nich přenášen spíše fyzikálním působením elektrického náboje vznikajícího v reakci ovlivněné magnetickým polem.

VLASTNOSTI MAGNETORECEPCE, KTERÉ JSOU SPOJOVÁNY S MECHANISMEM RADIKÁLOVÝCH PÁRŮ:

- závislost na světle - na jeho intenzitě i vlnové délce;
- senzitivita k inklinaci vektoru magnetického pole - inklinální magnetický kompas;
- detekce statického magnetického pole pouze v úzkém rozmezí jeho intenzity (velikosti indukce) – optimální funkční vyladění („funkční okno“) magnetického kompasu;
- rezistence vůči silným magnetickým pulzům;
- rušení slabými oscilujícími poli ($B \sim 0.1 \%$ přítomného statického pole; předpoklad interakce statického a oscilujícího pole) s frekvencemi v rozsahu radiofrekvenčního vlnění s nižší frekvencí (<100 MHz).

Významnou charakteristikou magnetorecepce, zásadní pro hypotézu chemického kompasu, je role fotoreceptivních orgánů v detekci magnetického pole. Výsledky mnohých studií nasvědčují tomu, že bez ohledu na odlišné typy fotoreceptorů, sdílí různé živočichové stejný způsob magnetorecepce, která je závislá na světle a svým charakterem odpovídá i dalším výše uvedeným vlastnostem. Využití mechanismu RP je zvažováno v souvislosti s magnetorepce ptáků (Wiltschko a Wiltschko 1972; Muheim, Bäckman a kol. 2002; Wiltschko, Stapput a kol. 2009; Engels, Schneider a kol. 2014), obojživelníků (Phillips 1986; Deutschlander, Borland a kol. 1999; Phillips, Deutschlander a kol. 2001, Freake a Phillips 2005), a také v souvislosti s projevy magnetorecepce živočichů ze skupiny hmyzu (Phillips a Sayeed 1993; Vácha a Soukopová 2004; Vácha, Drštková a kol. 2008, Vácha, Půžová a kol. 2009; Phillips, Jorge a kol. 2010).

VLIV RADIOFREKVENČNÍCH OSCILUJÍCÍCH (ELEKTRO)MAGNETICKÝCH POLÍ NA MECHANISMUS RP

Zvláště v poslední době je pozornost věnována jedné z vlastností magnetického kompasu živočichů, která bývá spojována s mechanismem RP. Jedná se o možnost ovlivnění magnetorecepce slabými radiofrekvenčními elektromagnetickými poli. Recentně bylo například popsáno rušení orientace ptáků radiofrekvenčními vlnami elektromagnetických polí vyskytujících se v prostředí díky činnosti člověka (Engels, Schneider et al. 2014). Nicméně tvrzení, že efekt antropogenních polí je zprostředkován kryptochromy nebo obecně

působením těchto polí na mechanismus RP, nemusí být jediným možným vysvětlením pozorovaného jevu.

Na rozdíl od dříve provedeného experimentu (Ritz, Wiltschko a kol. 2009), díky kterému byl popsán vliv specifického radiofrekvenčního elektromagnetického vlnění na orientaci ptáků, neodpovídaly parametry elektromagnetických polí působících během experimentů recentní studie (Engels, Schneider a kol. 2014) teoretickým hodnotám, při nichž by mělo docházet k interakci oscilujícího pole s volnými elektrony radikálových párů, respektive s jejich magnetickými spiny. Frekvence oscilujícího pole by v případě působení na radikálovou reakci měla odpovídat definované rezonanční frekvenci a zároveň by toto pole mělo mít určitou minimální hodnotu indukce; definované hodnoty frekvence a indukce přitom záleží na parametrech okolního statického magnetického pole (Země). K interakci oscilujícího pole s volnými elektrony může docházet v případě, že jeho frekvence v daném prostředí statického pole odpovídá tzv. Larmorově frekvenci volných elektronů. Přestože rušivý efekt radiofrekvenčních polí na orientaci zvířat pomocí magnetického pole byl tradičně zvažován v souvislosti s mechanismem magnetorecepce založeným na chemické reakci, při které vznikají radikálové páry, někteří autoři tvrdí, že nelze nyní zamítnout vliv oscilujících polí na mechanismus magnetorecepce zprostředkované biogenním magnetitem (Kirschvink 2014).

DOKLADY MAGNETORECEPCE U HLODAVCŮ (RODENTIA)

PRVNÍ STUDIE

První práce pojednávající o schopnosti hlodavců orientovat se pomocí magnetického pole byla publikována v roce 1981 (Mather a Baker 1980; Mather a Baker 1981). Její autoři tehdy testovali magnetorecepci myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*, Muridae) při tzv. homingu. Každá chycená myšice byla přenesena na testovací místo, 40 m vzdálené od místa odchytu, a umístěna do čtyřramenné arény. Zvířata byla transportována ve speciálním boxu, který umožnil vystavit je během přenosu magnetickému poli s opačnou polaritou oproti přirozenému geomagnetickému poli. Myšice přenesené v boxu s experimentálně změněným magnetickým polem se při homingu orientovaly směrem více vychýleným od směru k místu odchytu než kontrolní skupina zvířat. Navzájem se však skupiny signifikantně nelišily. Statisticky významná byla odchylka od směru k „domovu“ naměřená u experimentální skupiny myšic. Pokud však nebyla aréna použita při testování orientace zakrytá tak, aby

zvířata nemohla využít jiných okolních orientačních vodítek, orientace „správným“ směrem byla patrná i u myšic přenesených ve změněném magnetickém poli (Mather a Baker 1981). Dalším hlodavcem, u kterého výsledky odpovídaly schopnosti orientace pomocí magnetického pole, byl křeček bělonohý (*Peromyscus leucopus*, Cricetidae) (August, Ayvazian a kol. 1989).

Uvedené práce nebyly většinou uznány jako dostatečně průkazné. Jedním z důvodů bylo, že další následně publikované studie zabývající se také magnetorepcí hlodavců nepřinesly pozitivní výsledky. Příkladně se nepodařilo úspěšně zopakovat experiment zaměřený na magnetickou orientaci myšice křovinné (Sauvé 1988). Nejednoznačné byly také výsledky experimentů se zlatým křečkem (*Mesocricetus auratus*, Cricetidae). V jednom experimentu, založeném opět na přemístění zvířat, naznačovala získaná data, že se křeček orientuje pomocí magnetického pole (Mather 1985), zatímco jiný experiment s poněkud pozměněným designem, ale stejným cílem, tento závěr nepodpořil (Etienne, Maurer a kol. 1986). Schopnost určit správný směr při homingu v experimentálních podmínkách bez světla a bez jakýchkoliv jiných orientačních vodítek, kterou u norníka rudého popsal Karlsson (1984) sice odpovídala předpokladu, že se tato zvířata jsou schopná se orientovat pomocí magnetického pole Země, nicméně protože nebyl proveden test jejich orientace v experimentálně pozměněném poli, jednalo se pouze o nepřímý doklad jejich magnetorecepce.

Obecně je uspořádání dřívějších experimentů hlavním důvodem, proč nejsou zmíněné práce považovány za dostatečně průkazné ani dnes. Magnetickému poli byla totiž zvířata často vystavena během přesunu, ale už ne během samotného testu orientace. Sledování reakcí na podmínky magnetického pole ve chvíli, kdy se v něm zvíře přímo pohybuje, může jeho schopnost magnetorecepce doložit mnohem spolehlivěji.

Nicméně ani spolehlivější design experimentu nezaručí, že se podaří magnetorepce u zvířete doložit, ačkoliv je schopné magnetické pole detekovat. Například přestože dnes již existuje studie přesvědčivě popisující magnetorepce křeččíka Džungarského (*Phodopus sungorus*, Cricetidae), experiment Maddena a Phillipse (1987), kteří se pokoušeli natrénovat tyto hlodavce, tak, aby hledali potravu vždy v severní části experimentálního prostoru, přinesl negativní výsledky. Problémy může působit nedostatek motivace zvířat nebo třeba rušení funkce magnetorepčních mechanismů (viz kap.).

MAGNETORECEPCE PODZEMNÍCH HLODAVCŮ

Život v podzemí poskytuje fossoriálním a semifossoriálním živočichům značné výhody. Například se vyskytují mimo dosah mnoha predátorů, nejsou vystaveni extrémním klimatickým podmínkám panujícím v některých geografických oblastech, nebo jsou ušetřeni konkurenčního boje s jinými příbuznými druhy. Nicméně nic není zadarmo. Hlodavci tráví celý svůj život, nebo alespoň většinu svého života, v podzemních norách, se museli v průběhu evoluce přizpůsobit omezením, která pobyt v takto specifickém prostředí přináší. Jedním z těchto omezení je, že zde není možné využít běžné způsoby orientace v prostoru stejně jako na povrchu země. V prostředí bez světla se zvířata samozřejmě nemohou spoléhat na vizuální vnímání, ale ani orientace pomocí pachů a zvuků není v podzemí užitečná (Burda, Bruns a kol. 1990). Magnetické pole naproti tomu představuje spolehlivý zdroj poziční informace, který je dostupný i v těchto, na podněty jinak chudých, podmínkách. Lze tedy předpokládat, že právě u fossoriálních hlodavců je magnetorecepce dobře vyvinutá a běžně využívaná při orientaci v prostoru (Moritz, Burda a kol. 2007).

V 90. letech minulého století bylo postupně publikováno několik studií, které doložily schopnost magnetorecepce afrických fossoriálních hlodavců z čeledi rypsovitých (Bathyergidae). Již mnohem dříve, na základě pozorování v terénu, byla diskutována existence spontánní směrové preference při hloubení nor a budování hnízd u těchto zvířat (Eloff 1951). Ale až v laboratorních podmínkách se potvrdila spontánní směrová preference rypsoů závislá na orientaci vektoru magnetického pole (Burda, Marhold a kol. 1990). Po převrácení horizontální složky vektoru začala skupina rypsoů druhu *Fukomys anselli* stavět hnízda na opačné straně kruhové arény než v podmínkách přirozeného magnetického pole Země. Umístění budovaných hnízd tedy odpovídalo jejich směrové preferenci i v experimentálním poli s opačnou polaritou vektoru magnetické indukce. Navazující experiment (Marhold, Burda a kol. 1991) ukázal, že pokud je horizontální složka vektoru magnetického pole kompenzována, rypsoši se neorientují a hnízda staví ve všech směrech, kolem celé arény. Testován byl i vliv inverzní změny vertikální složky vektoru magnetického pole. Při této manipulaci se původně preferovaný směr nezměnil (Marhold, Burda a kol. 1991). To, že rypsoši nereagují na změnu horizontální složky vektoru magnetického pole, a také další charakteristiky jejich magnetické orientace (např. nezávislost na světle), ukazuje, že jejich magnetický kompas je polaritní, a že je zřejmě zprostředkovaný mechanismem magnetorecepce založeným na biogenních feromagnetických částicích (Marhold, Burda a kol. 1997; Marhold, Wiltshko a kol. 1997).

V nedávné době byla spontánní směrová preference při stavbě hnízd v kruhové aréně popsána u dalších dvou zástupců čeledi Bathyergidae, u solitérního rypše stříbřitého (*Heliophobius argenteocinereus*) a eusociálního rypše obřího (*Fukomys mechowii*) (Oliveriusová, Němec a kol. 2012). Uspořádání experimentů, ve kterých byla testována magnetorecepce těchto druhů, v zásadě odpovídalo designu prvních experimentů s rypoši druhu *Fukomys anselli* (Burda, Marhold a kol. 1990). Zajímavé je, že směrová preference rypošů *Heliophobius argenteocinereus* a *Fukomys mechowii* byla shodná, ale lišila se od dříve pozorované směrové preference druhu *Fukomys anselli*. Nabízí se vysvětlení, že směrová preference testovaných zvířat nebyla vrozená, ale naučená, asociovaná s podněty z prostředí, ve kterém byli hlodavci před experimentem.

Dalším podzemním hlodavcem, u kterého byla testována schopnost orientace pomocí magnetického pole, byl slepec *Spalax ehrenbergi* (čeleď Spalacidae). První práce však nepřinesly tak přesvědčivé výsledky, jako v případě rypošů (Burda, Beiles a kol. 1991; Marhold, Beiles a kol. 2000). Příčinnou nejednoznačných výsledků mohlo být mimo jiné uspořádání experimentů. Kimchi a Terkel (2001), kteří také studovali magnetorecepci tohoto druhu, obměnili dříve použitý design experimentu. Schopnost slepce orientovat se pomocí magnetického pole testovali místo v kruhové aréně v osmiramenném bludišti. Bludiště s chodbami průměrem odpovídajícími velikosti slepců více připomínalo přirozené prostředí jejich podzemních chodeb, ve kterých se tato zvířata běžně pohybují. Předešlé nejednoznačné výsledky mohla také zapříčinit krátká doba testu, během níž nepostavila hnízdo všechna zvířata. V experimentech Kimchiho a Terkela (2001) byla zjištěna signifikantní spontánní směrová preference slepců při stavbě hnízd a ukládání potravy. Stejní autoři dále testovali schopnost těchto zvířat využít přirozeného magnetického pole při orientaci v bludišti, tedy za účelem dosažení určitého cíle (zvířata byla trénována; motivací byla odměna ve formě potravy po úspěšném projití labyrintem). Při změně magnetického pole pomocí cívky došlo u trénovaných jedinců k významnému prodloužení času potřebného k překonání bludiště, a k nárůstu chybných rozhodnutí při volbě cesty bludištěm. Schopnost slepců využít magnetického pole při hledání cesty k cíli byla doložena i v dalších experimentech (Kimchi, Etienne a kol. 2004). Výsledky navíc ukázaly zajímavý vztah jejich magnetorecepce a idiothetické navigace (*path integration*) (Kimchi, Etienne a kol. 2004).

MAGNETORECEPCE NADZEMNÍCH HLODAVCŮ

Jak bylo zmíněno v úvodu této práce, schopností magnetorecepce disponuje mnoho živočichů, i z navzájem fylogeneticky hodně vzdálených skupin. Proto se nabízí otázka: Pokud

se pomocí magnetického pole orientují podzemní hlodavci z různých čeledí (Bathyergidae, Spalacidae), měl tuto vlastnost již společný předek všech zástupců řádu Rodentia? Dosavadní výsledky odpovídají hypotéze předpokládající schopnost magnetorecepce už u společného předka všech obratlovců (Vertebrata) (např. (Wiltschko a Wiltschko 2005). Již závěry některých prací publikovaných v počátcích studia magnetorecepce hlodavců, naznačovaly, že magnetické pole může být zdrojem směrové informace pro nadzemní hlodavce ve chvíli, kdy nemají možnost využít jiných orientačních vodítek (Mather a Baker 1980; Mather a Baker 1981; Karlsson 1984; Mather 1985; August, Ayvazian a kol. 1989). Teprve během pozdějších laboratorních testů se však podařilo přesvědčivě demonstrovat magnetoreceptci u křečička džungarského (*Phodopus sungorus*, Muridae) (Deutschlander, Freake a kol. 2003) a u myši laboratorního kmene C57BL/6J (Muheim, Edgar a kol. 2006; Phillips, Youmans a kol. 2013). Recentně byl magnetický kompas popsán také u norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*, Arvicolidae) (Oliveriusová, Němec a kol. 2014).

VLIV ZMĚN V PŘIROZENÉM MAGNETICKÉM POLI NA ŽIVOČICHY

RUŠENÍ MAGNETICKÉ ORIENTACE ŽIVOČICHŮ

Jeden z hlavních důvodů k pochybám, s nimiž v minulosti mnozí autoři přistupovali k tématu magnetorecepce, byl fakt, že se mnoho experimentů dokládajících její roli v orientaci živočichů nepodařilo zopakovat. Jak se však ukázalo, vysvětlení mnoha negativních výsledků (z nichž některé nebyly ani publikovány (Phillips, Youmans a kol. 2013), kterých bylo dosaženo při pokusech zopakovat dřívější experimenty, může být celkem prosté – orientace zvířat pomocí magnetického pole byla v některých případech zřejmě rušena, a to dokonce i přes veškeré úsilí eliminovat vliv okolních faktorů. Co mohlo negativně působit na magnetoreceptci zvířat během experimentů, ve kterých byl vliv okolních podmínek pečlivě kontrolován? Recentní studie (Engels, Schneider a kol. 2014) potvrdila to, co mnozí autoři zvažovali již delší dobu: magnetická pole přítomná v prostředí díky činnosti člověka mohou ovlivnit schopnost živočichů orientovat se pomocí přirozeného magnetického pole.

Již dříve byl popsán vliv neobvyklých podmínek magnetického pole, které se v prostředí vyskytují přirozeně – lokální anomálie a výkyvy v geomagnetickém poli, které mohou dosahovat hodnot geomagnetických bouří. Kromě vlivu na orientaci, byly již zvažovány i další efekty různých změn v přirozeném geomagnetickém poli a vliv různých

artificiálních, oscilujících a či jinak se v čase měnících magnetických polí. Obecně jsou otázky působení takových polí součástí značně širokého tématu, které zasahuje do různých vědních oborů od medicíny, přes zoologii a ekologii, až po obory biochemie a biofyziky. Ačkoliv se efekt změn v magnetickém poli na živočichy ukázal jako významný již v 80. letech (Ossenkopp, Kavaliers a kol. 1983), tedy v období, které předcházelo mnoha dalším magnetorecepčním studiím, byl vliv, ať už přirozeně se vyskytující výkyvy v magnetickém poli Země, nebo vliv slabých oscilujících magnetických polí vytvářených člověkem, doposud víceméně zanedbáván.

Především neúspěšné pokusy zopakovat některé magnetorecepční experimenty dnes znovu dostávají studium vlivů altrificiálních magnetických polí do popředí zájmu i v kontextu tradičního tématu magnetorecepce v užším slova smyslu, tedy magnetorecepce jako schopnosti umožňující zvířatům orientaci v prostoru pomocí magnetického pole. Problémy podpořit závěry plynoucí z experimentu, během kterého byla doložena schopnost magnetorecepce laboratorní myši kmene C57BL/6J (Muheim, Edgar a kol. 2006), byly vystřídány pozitivními výsledky, ve chvíli, kdy byl další test magnetické orientace těchto hlodavců proveden v prostředí odstíněném od okolních radiofrekvenčních polí (Phillips, Youmans a kol. 2013).

Živočichem, u kterého byl recentně přímo doložen vliv artificiálních radiofrekvenčních elektromagnetických polí (takových, která se v prostředí skutečně vyskytují), na jeho schopnost orientace v prostoru je červenka obecná (*Erithacus rubecula*). Ta se v průběhu let stala modelovým organismem pro studium magnetorecepce. Schopnost toho drobného pěvce využít magnetického pole k určení správného směru migrační cesty byla opakovaně popsána podobně jako u řady dalších ptáků (Wiltschko a Wiltschko 2005). Proto autorům recentně publikované práce (Engels, Schneider a kol. 2014), nebylo poměrně dlouho jasné, z jakého důvodu nebyly červenky, které testovaly stejným způsobem v době migračního neklidu, schopné orientace. S ohledem na výsledky dokládající senzitivitu červenky k radiofrekvenčním magnetickým polím (Ritz, Thalau a kol. 2004, Ritz, Wiltschko a kol. 2009) byly další testy provedeny v prostředí, ve kterém byla několikanásobně utlumena intenzita oscilujících elektromagnetických polí z okolních antropogenních zdrojů v rozsahu 50 kHz-20MHz (Engels, Schneider a kol. 2014). Až v takto odstíněném prostředí byli ptáci schopni se orientovat správným směrem vzhledem k místu jejich zimoviště.

Není jasné, jakým způsobem k rušení orientace dochází. Předpokládaný vliv elektromagnetických polí s vyšší intenzitou na magnetický kompas ptáků založený na mechanismu radikálových párů, tak jak byl popsán Ritzem a kol. (Ritz, Thalau a kol. 2004; Ritz,

Wiltschko a kol. 2009), se nezdá být v kontextu této studie pravděpodobný (Engels, Schneider a kol. 2014).

OSTATNÍ VLIVY MAGNETICKÝCH POLÍ NA FYZIOLOGII A CHOVÁNÍ ŽIVOČICHŮ

Biologický efekt magnetických polí nezahrnuje pouze působení na orientaci živočichů. V závislosti na parametrech daných polí byl sledován jejich vliv jak na fyziologii, tak na chování živočichů nespojující nutně s orientací v prostoru { shrnuto v Štefanská, 2012 #450}. Jedná se zejména o vliv takových polí, která vytvářejí podmínky odlišné od podmínek, na něž se organismy v průběhu evoluce adaptovali.

Některé práce se zabývají působením magnetických polí (jak statických, tak oscilujících), která svou intenzitou převyšují nejen intenzitu geomagnetického pole, ale také intenzitu převážné většiny umělých polí vyskytujících se v současné době v prostředí díky činnosti člověka. Zvažují se především zdravotní rizika polí s relativně vysokou intenzitou, která jsou používána jak v technických oborech, tak v lékařství (Karpowicz and Gryz 2006). Motivací dalších prací je naopak studium potenciálního využití (elektro)magnetických polí v medicíně (např. (Goudarzi, Hajizadeh et al. 2010),(Ryaby 1998)).

Naproti tomu se s rozšiřující se civilizací a technickým pokrokem stává čím dál, tím víc relevantní otázka elektromagnetického šumu, který je tvořen v čase proměnnými elektromagnetickými poli dvou typů polí rozlišovaných dle jejich frekvence. Jeden typ těchto oscilujících polí se označuje jako pole s extrémně nízkou frekvencí nízkou (50/60 Hz, Extremely low frequency magnetic field - ELF MF) a jejich vznik je spojen s využíváním střídavého elektrického proudu. Druhý typ tvoří vysokofrekvenční magnetická pole označovaná jako radiofrekvenční, která jsou využívána hlavně k přenosu informací (telekomunikační technika, bezdrátové sítě).

Pozornost vyvolává zejména značně kontroverzní otázka souvislosti mezi rizikem vzniku rakoviny a působením ELF (elektro)magnetických polí (Humans, Organization et al. 2002). Výsledky studií zaměřených na tuto problematiku jsou často protichůdné. Jedná se však především o studie epidemiologické, a pro posouzení relevantnosti rizika rakoviny i pro pochopení jiných možných efektů působení slabých proměnlivých magnetických polí je třeba pozornost zaměřit také na mechanismy jejich působení. V souvislosti s působením polí s vyššími hodnotami intenzit (≥ 1 mT) jsou zvažovány různé nesespecifické mechanismy jejich působení biofyzikálního charakteru odehrávající se na molekulární úrovni. I poněkud slabší pole by podle některých pozorovaných výsledků mohla teoreticky způsobovat „nespecifické“ změny, které nejsou zprostředkovány mechanismy magnetorecepce. Zvažovány jsou vlivy na

koncentraci Ca iontů uvnitř buněk nebo na aktivitu enzymů, které mohou dále vést k ovlivnění řady fyziologických funkcí organismu například prostřednictvím opioidního systému (shrnutí v Del Seppia, Ghione a kol. 2007).

Efekt působení ELF magnetických polí byl patrný například při testech prostorové paměti a orientace hlodavců {He 2011; Kavaliers 1993; Kavaliers 1996; Lai 1996; Sienkiewicz 1998}. Signifikantních výsledků bylo také dosaženo po expozici zvířat specifickým pulzním magnetickým polím. Například pulzy s maximální intenzitou $< 1\mu\text{T}$ imitující aktivitu neuronů v hipokampu (theta-burst pattern) působili na experimentálně navozený stav nižší citlivosti k bolesti (analgesii) u myši (Martin a Persinger 2005). Z výsledků podobných prací zatím nelze usoudit jakým způsobem různá, v čase nekonzistentní, magnetická pole na živočichy působí. Nicméně dokládají, že i určitá slabá magnetická pole mohou představovat faktor ovlivňující biologii organismů. Působení se může odehrávat i přímo na úrovni buněčné signalizace, a výsledek působení se může projevit i na behaviorální úrovni (např. ovlivnění reakcí na bolestivé podněty, reakce na stres).

Zmíněné testování nocicepce (vnímání bolesti) bylo předmětem většího množství studií zaměřených na problematiku vlivu ELF/pulzních magnetických polí na živočichy. Kromě toho, že se ukázalo, že magnetická pole mohou modulovat odpověď živočicha na bolestivý stimul (v závislosti na experimentálních podmínkách, Del Seppia, Ghione a kol. 2007), bylo opakovaně dosaženo zajímavých výsledků svědčících o vlivu světla na výsledný efekt aplikovaného magnetického pole (Betancur, Dell'Omo a kol. 1994, Prato, Kavaliers a kol. 1998, Kavaliers a Prato 1999; Koziak, Desjardins a kol. 2006; Prato, Desjardins-Holmes a kol. 2009). Vliv světla na efekt podmínek magnetického pole byl pozorován pouze v případě, když hodnota jeho vlnové délky spadala do rozmezí vlnových délek, které jsou testovaná zvířata (konkrétně se jednalo o myši laboratorního kmene CD-1) vnímat. Jak uvádějí sami autoři studie (Prato, Desjardins-Holmes a kol. 2009), ve které byla závislost vlivu světla na působení ELF magnetického pole sledována, vezmeme-li v potaz tyto výsledky, můžeme předpokládat zapojení fotoreceptorů do mechanismu působení podmínek magnetického pole. V uvedené studii byl konkrétně testován vliv hypomagnetického prostředí na myši. Jaký je mechanismus působení podmínek magnetických polí, jakou roli v něm hraje fotorecepce a do jaké míry je mechanismus shodný s mechanismem magnetorecepce umožňující některým zvířatům orientaci v magnetickém poli, která je závislá na světle, není jasné.

Spojitost mezi magnetorecepcí, jako schopností detekovat magnetické pole pomocí specializovaných magnetoreceptorů, zvažují někteří autoři též v souvislosti s působením „nenormálních“ podmínek magnetických polí vyskytujících se v přirozeném prostředí člověka

i živočichů - umělého oscilujícího (elektro)magnetického pole (zejména ELF mag. pole) a občasných geomagnetických bouří. Navržené hypotézy mají společný základ, který tvoří předpoklad, že magnetická pole z antropogenních zdrojů (Phillips a Deutschlander 1997, Vanderstraeten and Burda 2012, Vanderstraeten, Verschaeve a kol. 2012) nebo změny v geomagnetickém poli způsobené geomagnetickými bouřemi (Close 2012) jsou živočichy detekovány a jako nepřírodní stimuly potenciálně vyvolávají stresovou odpověď organismu nebo narušují homeostázu organismu například ovlivněním cirkadiálních rytmů.

CÍL PRÁCE

Cílem mé práce bylo detailně zhodnotit vliv čtyř různých experimentálních podmínek magnetických polí na explorační chování hlodavců v open field testu. Zde prezentované výsledky by měly dále sloužit jako referenční materiál pro studii neurálního substrátu magnetorecepce hlodavců. Jako modelový organismus byla za účelem tímto účelem využita myš laboratorního kmene C57BL/6J, u které byla schopnost magnetorecepce opakovaně doložena.

MODELOVÝ ORGANISMUS

Založení imbredního kmene C57BL je datováno do roku 1921 a celosvětově se jedná o nejčastěji využívaný laboratorní kmen myši. I díky tomu se právě myš kmene C57BL/6J stala v roce 2002 po člověku druhým savcem, jehož genom byl kompletně osekvenován. Recentně byla publikovaná studie, která ještě lépe než předchozí studie ukazuje původ laboratorních kmenů myši - tak jako u ostatních klasických laboratorních kmenů odpovídá i u kmene C57BL/6J analýza genomu tomu, že jde o linii, jejíž zakladatelé byly z větší části synantropní myši domácí *Mus musculus* – konkrétně poddruh *M. m. domesticus*. Velmi malou část genomu pak představují sekvence shodné s japonskou myší *M. m. molossinus*, která vznikla hybridizací poddruhů *M. m. musculus* a *M. m. castaneus*.

MATERIÁL A METODIKA

MATERIÁL

Zvířata zařazená do experimentu

Do experimentu bylo zařazeno 39 samic ve věku 60 až 80 dní (váha cca 20 g). Myši pocházely z chovu americké instituce The Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine, USA). Krátce po převzetí byla všechna zvířata převezena na místo konání experimentu – průhonický park, budova Geofyzikálního ústavu AV ČR (N 49.99°; E 14.54°).

Podmínky chovu

Samotnému experimentu předcházela dvoutýdenní fáze habituace, během níž byly myši ponechány v budově tvořící zázemí experimentu, ve standardních chovných boxech typu VELAZ T3 (d 31 cm x s 21 cm x v 15 cm). Nejprve byly chovány ve skupinách, později odděleně, po jedné. Prostor, ve kterém byly chovné boxy umístěny, byl odstíněn od okolních radiofrekvenčních elektromagnetických polí; maximální hodnota indukce < 0.10 nT (0.1-100 MHz). Světelný režim byl upraven

na světlo/tma \approx 12/12 hodin (světelná fáze: 2-14h SEČ). Během habituační fáze bylo se zvířaty opakovaně manipulováno, aby byl eliminován efekt stresu z manipulace během experimentu. Potravu a vodu měly myši k dispozici *ad libitum*. Jako stelivo byly použity dřevěné hobliny. Jako materiál na hnízdo posloužila zvířatům bavlněná vata. V přípravné fázi, během experimentu a při veškerých manipulacích bylo se zvířaty zacházeno v souladu s platnými předpisy podle § 17 odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb.

METODIKA

Aparatura pro experimentální manipulaci magnetického pole

K manipulaci s magnetickým polem byla během experimentu použita Merrittova cívka (systém cívek) (Merritt, Purcell a kol. 1983); trojosá, dvojité vinutá cívka generující vysoce homogenní magnetické pole uvnitř aparatury, kde byla umístěna aréna pro OFT. Rozměry cívky byly: 1.8 m x 1.8 m x 1.8 m.

Cívka je instalována v experimentální budově odstíněné od okolních radiofrekvenčních elektromagnetických polí; maximální hodnota indukce < 0.10 nT (0.1-100 MHz). Změny vertikální i horizontální komponenty hlavního vektoru magnetického pole délka (intenzita magnetického pole) byly kontrolovány počítačem řízenou jednotkou (Hamann

Hardware & Software Development, Plön, Germany), která ovládá zdroje stejnosměrného napětí (Dual Tracking DC regulated power supply, DCD-3030, MANSON ENGINEERING INDUSTRIAL LTD.). Celý řídicí systém, včetně zdrojů napětí, se nacházel mimo experimentální budovu. Byl umístěn v budově zázemí vzdálené cca 30 m od budovy, ve které probíhaly experimenty. Během experimentu bylo magnetické pole měřeno triaxiálním digitálním magnetometrem GeoMag (senzor Honeywell HMR2300, Edis vvd, Kosice, Slovakia).

Aréna pro open field test (OFT)

Open field test probíhal v kruhové aréně umístěné ve středu Merrittovy cívky. Průměr arény byl 0,82 m, výška stěn 0,41 m, vyrobena byla z neprůsvitného plastu. Dno arény bylo během experimentu pokryto podestýlkou pro hlodavce (dřevěné hobliny). Před testem každé myši byla aréna důkladně vyčištěna roztokem detergentu Triton™ X-100 (Sigma-Aldrich).

Světelné podmínky během OFT

Prostor experimentální místnosti byl během OFT osvětlen tlumeným rovnoměrně rozptýleným světlem. Zdrojem světla byly čtyři halogenové žárovky (Osram 64634 HLX, 150W, 15V) umístěné pod úrovní horní hrany stěny arény, jedna žárovka v každém ze čtyř rohů čtvercové místnosti. V experimentálním prostředí nebyl přítomen žádný světelný gradient. Rozsah vlnové délky použitého osvětlení odpovídal přibližně rozsahu vlnové délky přirozeného slunečního záření (včetně UV složky, cca 360–790 nm).

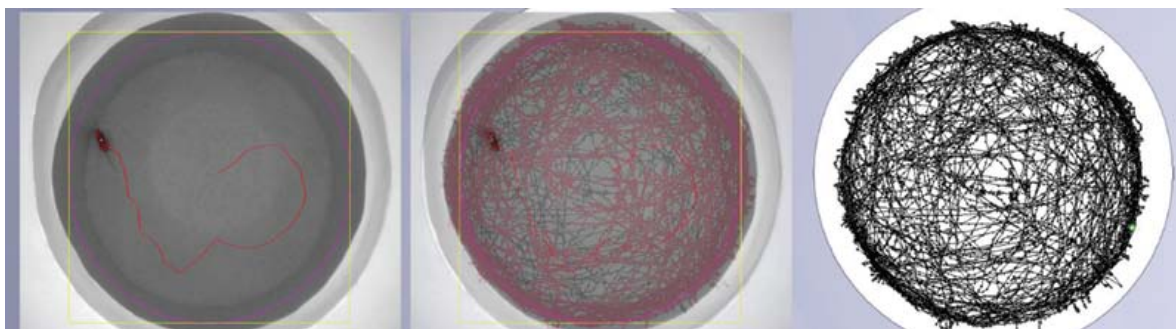
Software pro analýzu pohybu a chování

Během experimentu byl pořízen digitální videozáznam průběhu OFT každé myši.

Pohyb zvířat byl vyhodnocován pomocí počítačového softwaru - automatického trackovacího systému, který pracuje na principu analýzy digitálního obrazu (soubor několika programů, software naprogramovaný na zakázku). Pozice myši v aréně byla softwarem zaznamenána jednou za 0,08 s jako bod v kartézské soustavě souřadnic. Spojením těchto bodů pak byla určena dráha a z ní vypočítány některé charakteristiky pohybu zvířete v prostoru arény během OFT. K těmto operacím byly také použity programy trackovacího systému.

Další parametry pohybu myši v aréně byly z vypočítané dráhy zjišťovány také pomocí programu Carousel Maze Manager (dále CMM)(Bahník 2013).

Záznam definovaných prvků chování byl pořízen pomocí programu JWatcher_V1.0.



Obr. 1 Zjišťování dráhy pohybu zvířete v OFT pomocí automatického trackovacího systému

Průběh OFT

Zvířata byla testována ve fázi jejich subjektivní noci. Testování probíhalo v době 14 – 21 h SEČ. Myš byla do experimentální budovy přenesena vždy ve svém chovném boxu, který byl během transportu (vzdálenost cca 30 m) přikryt neprůsvitným obalem. Poté bylo zvíře umístěno do středu arény a po dobu 75 minut ponecháno bez rušení v OFT. Během této doby nebyl v experimentální budově nikdo přítomen. Po 75 minutách nucené explorační v OFT byla myš odchycena a vystavena letální dávce inhalačního anestetika halotanu (2-brom-2-chlor-1,1,1-trifluorethan, Sigma-Aldrich). Následně byly provedeny veškeré náležitosti nutné k získání materiálu pro analýzu neurálního substrátu, na kterou se zaměřila Bláhová (2014).

Experimentální podmínky magnetických polí

Zvířata byla náhodně rozdělena do 5 experimentálních skupin. Každá skupina byla vystavena jiným experimentálním podmínkám magnetického pole (viz Tabulka č. 1). Každé zvíře bylo testováno pouze jednou, a po celou dobu OFT bylo vystaveno stejným podmínkám magnetického pole. Pořadí, ve kterém byl testován efekt jednotlivých experimentálních podmínek, bylo víceméně náhodné. Celý experiment probíhal 13 dní; denně byla testována tři zvířata. Volba experimentálních podmínek pro konkrétního jedince byla uzpůsobena tomu, aby byl během celého experimentu testován vliv všech magnetických polí stejnoměrně v různém pořadí - 1., 2. nebo 3. OFT (probíhající v podmínkách daného pole) jednoho dne. Tedy aby například „nulové pole“ tvořilo jeden den experimentální podmínky prvního provedení open field testu, jiný den aby byl testován jeho vliv ve druhém nebo třetím testu daného odpoledne. Všechna pole tak byla analogicky použita přibližně stejně často v různém pořadí.

Tabulka 1. Podmínky magnetických polí

Kontrolní skupinu tvořila zvířata pohybující se v přirozeném geomagnetickém poli. Ostatní skupiny myší byly vystaveny uvedeným experimentálním polím vytvářených pomocí systému cívek.

SKUPINA – označení skupin podle podmínek magnetického pole, kterému byla zvířata během OFT vystavena; N – počet zvířat ve skupině; KOMPLEXNÍ STIMUL (KOM) - pravidelně se opakující sekvence změn orientace a velikosti vektoru indukce mag. pole složená z fáze řízené rotace vektoru v prostoru a fáze náhodných rychlých změn směru vektoru i velikosti indukce v uvedeném rozsahu hodnot; KOMPLEXNÍ STIMUL S MAXIMÁLNÍMI HODNOTAMI MAG. INDUKCE (K-MAX) – analogické podmínky ke stimulu KOM ale s hodnotami indukce 5x vyššími.

SKUPINA	N	PARAMETRY MAG. INDUKCE	INKLINACE	CHARAKTER MAG. POLE
PŘIR	8	46 μ T	66°	PŘIROZENÉ pole: lokální geomagnetické pole
NUL	8	< 500 nT	0°	„NULOVÉ“ pole
INT	9	0→25→50→75→100→125→150→0 μ T	66°	Změna „INTENZITY“: změna indukce každé 2 s
KOM	8	50 až -50 μ T	proměnlivá	KOMPLEXNÍ STIMUL: změna velikosti i směru vektoru m.p.
K-MAX	6	250 až -250 μ T	proměnlivá	KOMPLEXNÍ STIMUL, MAXIMÁLNÍ HODNOTY INDUKCE: změna velikosti i směru vektoru m.p.

Hodnocení vlivu magnetických polí na chování myší v OFT

U každého zvířete byly následujícími způsoby hodnoceny parametry pohybu a četnosti projevů chování během OFT. Následně byly statisticky porovnávány rozdíly v naměřených hodnotách mezi jednotlivými experimentálními skupinami.

Hodnocení parametrů pohybu myší v prostoru arény

Hodnoceny byly tyto parametry popisující charakter lokomoční aktivity zvířat v aréně získané pomocí automatického trackovacího systému:

- celková průměrná rychlost pohybu, $m \cdot s^{-1}$;
- průměrná úhlová rychlost – charakteristika pohybu kolem středu arény bez ohledu na vzdálenost od středu, $rad \cdot s^{-1}$;
- průměrná radiální rychlost – charakteristika pohybu mezi středem a stěnami arény v libovolném směru, $m \cdot s^{-1}$.

Pomocí programu CMM byly zjištěny hodnoty parametrů definovaných následujícím způsobem (CITACE):

- **Thigmotaxe** - podíl času stráveného subjektem v mezikruží, jehož vnější hranici tvoří okraj arény. Šířka mezikruží byla nastavena tak, že sektor, který jím byl definován představoval 20 % z celkové plochy dna arény.
- **Průměrná vzdálenost od středu arény** - průměr vzdáleností pozic testovaného zvířete od středu arény. Tento parametr ukazuje na podobný konstrukt jako thigmotaxe, ale na rozdíl od thigmotaxe se nejedná o parametr závislý na nastavení šíře mezikruží
- **Celková vzdálenost** - vzdálenost, kterou zvíře překonalo bez ohledu na rychlost pohybu

Z dráhy pohybu byly pomocí programu CMM dále stanoveny délky časů strávených v jednotlivých sektorech arény definovaných za účelem hodnocení **směrové preference**. Porovnání délek časů strávených v jednotlivých sektorech vedlo k určení preferovaného směru ve stupních (0°- 360°; 0° skutečná poloha geomagnetického severního pólu). Definováno bylo 36 sektorů po 10°, střed prvního sektoru = 0° (geomagnetický sever).

Jednotlivé rychlosti byly hodnoceny v časových úsecích představujících prvních a posledních 20 minut a v časovém úseku 75 minut, který odpovídal celkové délce trvání OFT. Ostatní parametry zjištěné pomocí programu CMM byly hodnoceny v pětiminutových časových úsecích, na které byl rozdělen celkový čas OFT.

Směrová preference byla hodnocena postupně v celkovém čase OFT (75 minut), v prvních a posledních 20 minutách OFT.

Tabulka 2. Etogram myši v OFT

označení pozorovaného chování	projevy daného prvku chování
čištění (grooming)	čištění, úprava srsti, drbání včetně krátkého podrbání
panáček	postavení na zadní končetiny v prostoru
panáček o stěnu	postavení na zadní končetiny a současné opření předními končetinami o stěnu arény
výskok	prudký pohyb vpřed, všechny končetiny na okamžik ztrácí kontakt s podkladem, výskok, snaha uniknout z uzavřeného prostoru
očichávání stěny	přiblížení ke stěně, frontální postavení vůči stěně, někdy patrné pohyby hlavy značící explorativní očichávání
hrabání	odstraňování podkladového materiálu prudkými pohyby předních končetin, může se jednat o projev snahy uniknout z uzavřeného prostoru

Statistické zpracování naměřených dat

Hodnocení projevů definovaných prvků chování

Videozáznam OFT byl analyzován observační metodou. Zaznamenávány byly prvky chování zahrnuté do etogramu definovaného na základě zkušebního pozorování (viz Tabulka č. 2), které bylo provedeno i za účelem testování opakovatelnosti měření. Projevy chování byly zaznamenávány jako jednotlivé události, jejichž počty byly následně porovnávány mezi experimentálními skupinami zvířat. Porovnáváním četností projevů mezi těmito časovými úseky byly zjišťovány změny v chování během OFT a vliv magnetických polí na průběh změn. Hodnoceny byly zvláště dva časové úseky: prvních 20 min a posledních 20 min OFT. Ke statistickému zhodnocení většiny získaných dat byl použit statistický program R (verze 3.0.2, The R Foundation for Statistical Computing). Normální rozložení hodnot v jednotlivých skupinách bylo ověřováno Shapiro-Wilkovým testem. V některých případech bylo třeba přistoupit k normalizaci dat pomocí logaritmické transformace. V případě, že data, která měla být logaritmována, obsahovala nulové hodnoty, byl ke všem naměřeným hodnotám přičten koeficient (jedna). U výsledků měření, která má smysl vzájemně porovnávat, byla naměřená data transformována stejným způsobem, tak, aby bylo zachováno stejné měřítko hodnocených parametrů.

Rozdíly mezi skupinami v hodnotách parametrů pohybu v OFT byly testovány jednofaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA). Pokud data nesplňovala podmínky pro užití ANOVy, a data se nepodařilo efektivně transformovat, byl pro porovnání hodnot daného parametru mezi skupinami použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. V případě signifikantních výsledků byl následně proveden mnohonásobný párový post-hoc Tukey test (po ANOVě) nebo mnohonásobný Mann–Whitneyův U test s Bonferroniho korekcí (po neparametrickém Kruskal-Wallisově testu). Korelace složek celkové rychlosti byla hodnocena pomocí Pearsonova korelačního koeficientu a Spearmanova koeficientu pořadové korelace. V případě signifikantních rozdílů mezi skupinami v hodnotách radiální a úhlové rychlosti, byla provedena Bonferroniho korekce.

Posouzení změn rychlostí a změn chování v čase (změn četností hodnocených prvků chování v čase) bylo provedeno pomocí marginálního modelu; funkce gls programu R (balíček nlme, více informací o této metodě a podobných modelech je možné nalézt např. v (Pekár

and Brabec 2012). Marginální model umožnil do analýzy zahrnout najednou data pro oba hodnocené časové úseky (prvních a posledních 20 minut OFT) a přitom zohlednit závislost dvou pozorování jednoho jedince v těchto časových úsecích. Hodnocen byl vliv času jako efektu působícího individuálně na každého jedince (změna uvnitř subjektu), podmínky magnetického pole jako efektu působícího mezi jedinci, respektive mezi jedinci z jednotlivých experimentálních skupin, a interakce těchto efektů.

Individuální variabilita v chování myší během OFT byla posouzena explorativním přístupem pomocí analýzy hlavních komponent (PCA).

Statistické zhodnocení **směrových preferencí** bylo provedeno pomocí cirkulární statistiky (Batschelet, Batschelet et al. 1981). Použity programy CirkStat (software vytvořený na zakázku) a Oriana (verze 4.02, Kovach Computing Services). Rozdíl mezi rozložením směrů preferovaných jednotlivými zvířaty a rozložením náhodným byl v rámci každé skupiny testován váženou (Moorova modifikace Rayleigho testu) i neváženou (Rayleigho test) statistikou. Při použití vážené statistiky byly zohledněny rozdíly v délkách vektorů preferovaných směrů, které odrážely rozdíly v míře preference jednoho směru daným zvířetem. To znamená, že v případě, že zvíře trávilo výrazně více času v jednom sektoru arény oproti ostatním sektorům, byla délka směrového vektoru určující směr jeho směrové preference větší. Pokud trávilo přibližně stejně času ve všech sektorech arény, byla délka směrového vektoru výrazně kratší.

Kromě unimodální směrové preference byla testována též bimodální směrová preference. Výsledky všech analýz byly hodnoceny na hladině signifikance $\alpha = 0.05$.



Podmínky experimentu - vlevo ubikace laboratorních zvířat umístěné v prostředí s radiofrekvenční izolací, vpravo Merritova cívka s experimentální arénou

Výsledky

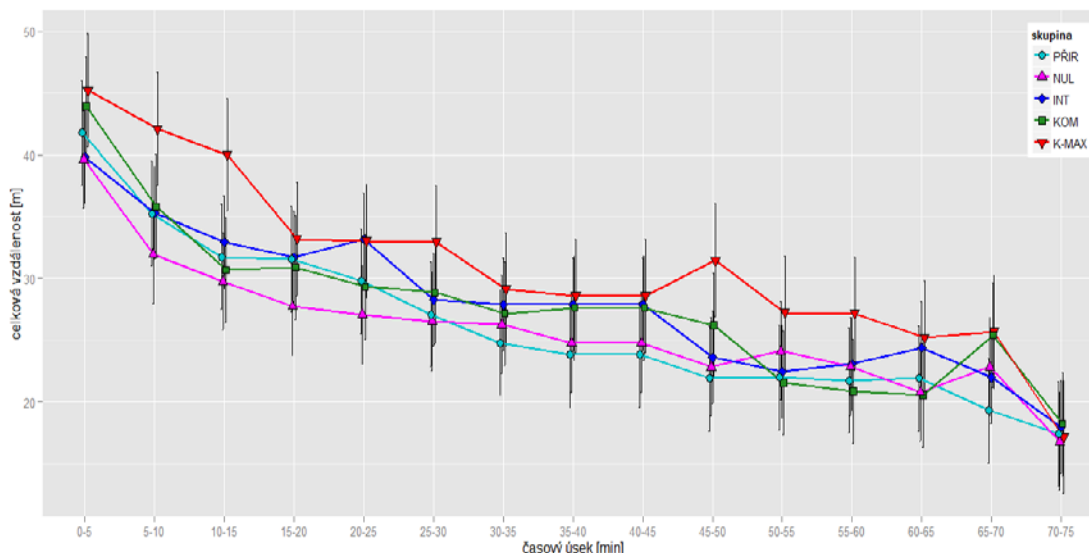
Vliv podmínek magnetického pole na pohyb myši v průběhu OFT

Trendy ve změnách pohybu zvířat v průběhu OFT

Nejvýraznější trend představoval pokles průměrné rychlosti, a tedy i překonávané vzdálenosti, u všech zvířat v průběhu OFT. Graf č. 2 zobrazuje celkovou vzdálenost, kterou překonala zvířata v jednotlivých pětiminutových úsecích celkového času OFT. U jedinců ze všech skupin byl patrný postupný pokles délky dráhy pohybu (tj. zároveň též průměrné rychlosti) v jednotlivých po sobě následujících časových intervalech během OFT.

Graf 2 Pokles překonávané vzdálenosti v průběhu OFT

Graf vzdáleností, které myši překonaly v jednotlivých časových úsecích OFT. Znázorněny jsou průměrné hodnoty jednotlivých skupin a jejich 95 % intervaly spolehlivosti.



Pozn.: Z důvodu výrazně vyšších rychlostí pohybu jednoho jedince ze skupiny PŘIR a jednoho jedince ze skupiny KOM nebyly vzdálenosti, které tyto jedinci překonali, zahrnuty do výpočtu zobrazených průměrných hodnot.

Vliv působení magnetických polí na rychlost pohybu myši - CELKOVÝ ČAS OFT (75 min)

Výsledky jednofaktorové analýzy rozptylu, pomocí které byl hodnocen vliv podmínek magnetického pole na celkovou průměrnou rychlost pohybu myši v OFT, odpovídají nulové hypotéze: jednotlivé experimentální skupiny se v naměřených hodnotách průkazně nelišily (ANOVA; $F = 1.288$, $p = 0.294$). Výsledky hodnocení vlivu magnetických polí na jednotlivé složky celkové průměrné rychlosti lze uvést následovně: vliv magnetických polí na radiální složku celkové průměrné rychlosti byl marginálně signifikantní (ANOVA; $F = 2.551$, $p = 0.056$); v působení magnetických polí na úhlovou složku celkové průměrné rychlosti byl zjištěn

nesignifikantní trend (ANOVA; $F = 2.232$, $p = 0.086$). Rozdíly v hodnocených průměrných rychlostech myší z jednotlivých skupin jsou zaznamenány v grafech č. 3 (A-C). U všech skupin, kromě skupiny K-MAX, byly složky celkové průměrné rychlosti korelovány. Hodnoty korelačních koeficientů s příslušnými p-hodnotami udává tabulka č. 3.

Tabulka 3 Korelace složek průměrné celkové rychlosti v průběhu 75 min OFT

Skupina/magnetické pole	Pearsonův korelační koeficient	p-hodnota
PŘIR	0.890	0.003
NUL	0.982	<0.001
INT	0.922	<0.001
KOM	0.978	<0.001
K-MAX	0.679	0.138

Vliv působení magnetických polí na rychlost pohybu myší - PRVNÍCH 20 MIN OFT

Celková průměrná rychlost nebyla během prvních 20 minut ovlivněna podmínkami magnetického pole (graf č. 4 A). Jednotlivé skupiny se od sebe významně nelišily (ANOVA; $F = 1.956$, $p = 0.122$). Výsledek vztahující se k efektu magnetických polí na průměrnou úhlovou rychlost (graf č. 4 B) byl nad hranicí signifikance, ale byl pozorován trend v působení magnetických polí na tuto složku celkové průměrné rychlosti (ANOVA; $F = 2.397$, $p = 0.069$). Signifikantní rozdíl byl zjištěn mezi skupinami NUL a K-MAX (Tukey's HSD post-hoc test; $p = 0.030$). V prvních 20 minutách OFT byly tedy hodnoty průměrné úhlové rychlosti u myší ze skupiny K-MAX vyšší než hodnoty této rychlosti u zvířat ze skupiny NUL. Trend byl patrný také v působení podmínek magnetických polí na průměrnou radiální rychlost (graf č. 4 C) (Kruskal-Wallisův test; $p = 0.061$). Porovnáním jednotlivých skupin se ukázalo, že rozdíl mezi skupinami PŘIR a K-MAX mohl být statisticky významný (Mann–Whitney U test, Bonferroniho korekce; odhad $p = 0.037$). Výsledky korelačních testů průměrné úhlové a průměrné radiální rychlosti zvířat z jednotlivých skupin uvádí tabulka č 4. Výrazně odlišná hodnota korelačního koeficientu těchto rychlostí oproti ostatním skupinám byla zjištěna u skupiny K-MAX. Nicméně u žádné skupiny experimentálních zvířat nebyly zmíněné složky rychlosti vzájemně korelovány.

Tabulka 4 Korelace složek průměrné celkové rychlosti v prvních 20 minutách OFT

Skupina/magnetické pole	Typ korelačního testu	Korelační koeficient	p-hodnota
PŘIR	Sperman	0.058	0.714
NUL	Pearson	<0.001	0.944
INT	Sperman	0.09	0.600
KOM	Pearson	<0.001	0.970
K-MAX	Pearson	0.7096	0.196

POSLEDNÍCH 20 MINUT

Žádný z výsledků hodnocení průměrné celkové rychlosti a jejích složek, průměrné radiální a úhlové rychlosti pohybu myši, v posledních 20 minutách OFT nebyl statisticky významný (ANOVA; průměrná celková rychlost: $F = 1.141$, $p = 0.355$; průměrná radiální rychlost: $F = 1.896$, $p = 0.135$; průměrná úhlová rychlost: $F = 2.163$, $p = 0.096$). Ze statistické analýzy byl vyloučen jeden jedinec ze skupiny PŘIR a jeden jedinec ze skupiny KOM. Rychlost pohybu těchto konkrétních zvířat byla v průběhu posledních 20 min výrazně vyšší oproti všem ostatním jedincům

Graf 3 (A-C) Vliv magnetických polí na rychlost pohybu myší v aréně OFT (75 min)

Vliv magnetických polí na změny rychlosti v čase

(rozdíl mezi časovými úseky prvních a posledních 20 minut OFT)

Vliv magnetických polí na změny v průměrné celkové rychlosti a v průměrné úhlové rychlosti myší v průběhu OFT nebyl zaznamenán. Průměrná radiální rychlost nebyla tímto způsobem hodnocena z důvodu velkých rozptylů jejích hodnot v rámci jednotlivých skupin, které by výsledek hodnocení značně zkreslily.

Samotný čas měl statisticky prokazatelný vliv na pohyb zvířat bez ohledu na podmínky magnetického pole (Marginální model založený na GLS; $p < 0.0001$). Jako statisticky významný byl vyhodnocen rozdíl v hodnotách průměrné úhlové rychlosti mezi skupinami K-MAX a NUL ($p = 0.001$), K-MAX a INT ($p = 0.046$). Tyto výsledky jsou víceméně ve shodě s výše uvedenými. Do statistické analýzy nebyl zahrnut jeden jedinec ze skupiny PŘIR a jeden jedinec ze skupiny KOM, kteří se v posledních 20 minutách OFT rychlostí výrazně odlišovali od ostatních. Výsledky statistických testů založených na marginálním modelu jsou uvedeny v tabulkách č. 5 (A-C). Změny průměrné úhlové rychlosti v čase u jednotlivých skupin znázorňuje graf č. 5.

Tabulky 5 (A-C) Změny rychlostí pohybu zvířat v čase

Vliv magnetických polí, času a interakce času a magnetického pole na změny rychlostí pohybu myší v průběhu OFT (do statistického hodnocení zahrnuta data z prvních a posledních 20 min OFT).

A) Změny v celkové průměrné rychlosti během OFT

faktor ovlivňující změny v celkové průměrné rychlosti	F - hodnota	p - hodnota
skupina (podmínky mag. pole)	2.098	0.091
Čas	195.293	<.0001
interakce času a podmínek mag. pole	0.853	0.497

B) Změny v průměrné úhlové rychlosti během OFT

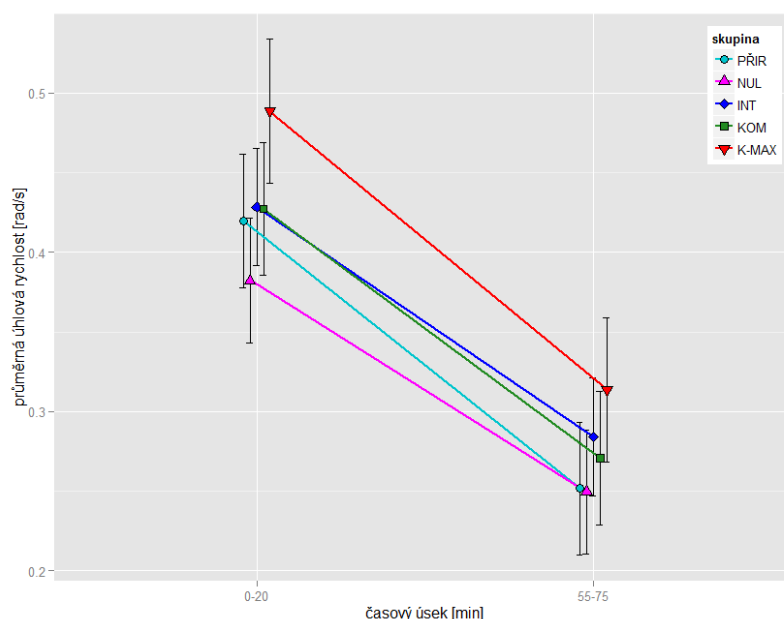
faktor ovlivňující změny v průměrné úhlové rychlosti	F - hodnota	p - hodnota
skupina (podmínky mag. pole)	3.032	0.023
čas	217.136	<.0001
interakce času a podmínek mag. pole	0.635	0.639

C) Rozdíly ve vlivu jednotlivých magnetických polí na změny úhlové rychlosti v čase

	PŘIR	NUL	INT	KOM	K-MAX
PŘIR		0.082	0.902	0.949	0.065
NUL	0.082		0.095	0.072	0.001
INT	0.902	0.095		0.850	0.046
KOM	0.949	0.072	0.850		0.074
K-MAX	0.065	0.001	0.046	0.074	

Tabulka udává p-hodnoty koeficientů, které vyjadřují rozdíly ve vlivu jednotlivých magnetických polí na změny průměrné úhlové rychlosti myši během OFT.

Graf 5 Změna průměrné úhlové rychlosti v čase



Znázorněny jsou průměrné hodnoty jednotlivých skupin v prvních a posledních 20 minutách OFT a jejich 95 % intervaly spolehlivosti.

Ostatní hodnocené parametry pohybu myši v OFT

Vyhýbání se středu arény (hodnocení thigmotaxe a průměrné vzdálenosti od středu arény)

Podmínky magnetických polí neměly statisticky prokazatelný vliv na tendenci zvířat zdržovat se přednostně u stěn arény a vyhýbat se otevřenému prostoru ve středu arény.

Celkový čas OFT (75 min)

Mezi skupinami nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl ani v thigmotaxi (podíl času stráveného v mezikruží, jehož vnější hranici tvoří okraj arény; jednalo se 20% z celkové plochy dna arény)(ANOVA; $F = 2.023$, $p = 0.113$), ani v průměrné vzdálenosti od středu arény (ANOVA; $F = 1.792$, $p = 0.153$).

Změny v čase

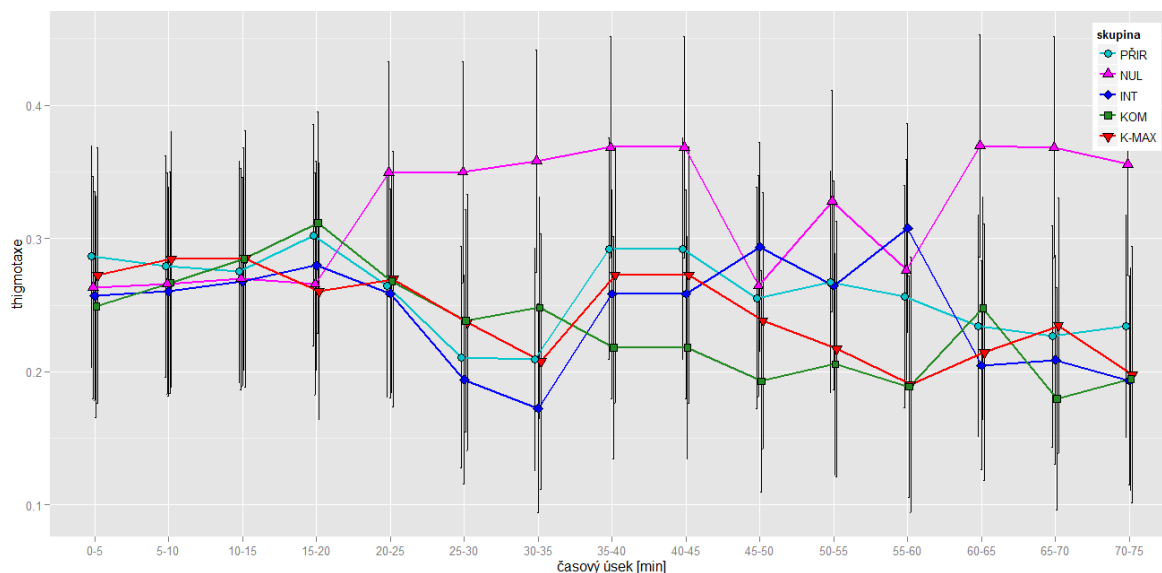
U žádné skupiny myší bez ohledu na podmínky magnetického pole nebyla zaznamenána výrazná preference pohybu v okrajových částech arény a její míra se statisticky významně neměnila v čase. Experimentální magnetická pole neměla statisticky průkazný vliv na změny thigmotaxe a vzdálenosti zvířat od středu arény v čase, nicméně výsledek vlivu magnetických polí na průběh změn v průměrné vzdálenosti od středu arény byl marginálně signifikantní. Výsledky statistické analýzy jsou uvedeny v tabulkách č. 6 a 7. Hodnoty thigmotaxe a průměrné vzdálenosti myší od středu arény vztahující se k pohybu zvířat v jednotlivých pětiminutových časových úsecích OFT jsou vyneseny do grafů č. 6 a 7.

Tabulka 6 Změny v míře thigmotaxe během OFT

faktor ovlivňující změny v thigmotaxi	F - hodnota	p - hodnota
skupina (podmínky mag. pole)	1.178	0.288
čas	1.917	0.106
interakce času a podmínek mag. pole	1.161	0.207

Vliv magnetických polí, času a interakce času a magnetického pole na změny v míře thigmotaxe v průběhu OFT; hodnocení založeno na datech získaných hodnocením pětiminutových úseků dohromady odpovídajících celkové délce OFT – 75 min).

Graf 6 Záznam thigmotaxe v průběhu OFT (časové úseky 5 min)



Thigmotaxe - podíl času stráveného v mezikruží, jehož vnější hranici tvoří okraj arény; 20% z celkové plochy dna arény. Mezi skupinami nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl.

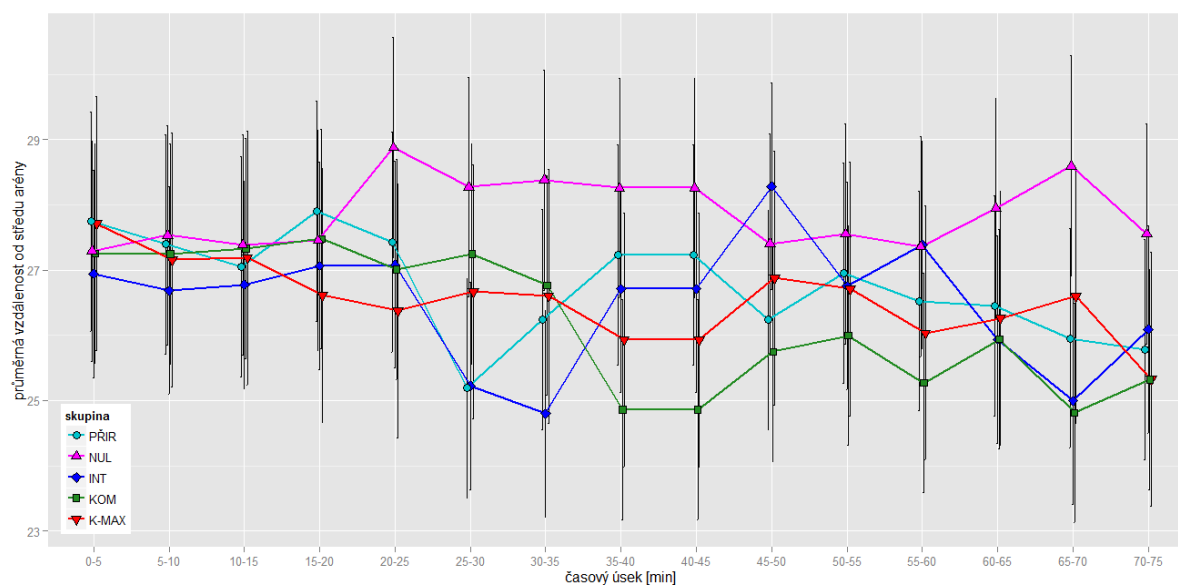
Znázorněny jsou průměrné hodnoty jednotlivých skupin a jejich 95 % intervaly spolehlivosti pro jednotlivé 5 min úseky.

Tabulka 7 Změny v průměrné vzdálenosti myší během pohybu v OFT

faktor ovlivňující změny v thigmotaxi	F - hodnota	p - hodnota
skupina (podmínky mag. pole)	1.692	0.054
čas	1.772	0.133
interakce času a podmínek mag. pole	1.056	0.372

Vliv magnetických polí, času a interakce času a magnetického pole na změny v průměrné vzdálenosti od středu arény v průběhu OFT; hodnocení založeno na datech získaných hodnocením pětiminutových úseků dohromady odpovídajících celkové délce OFT – 75 min).

Graf 7 Průměrná vzdálenost od středu arény (časové úseky 5 min)



Podmínky magnetického pole neměly významný vliv na průměrnou vzdálenost myší od středu arény (průměr arény = 0.82 m). Znáznorněny jsou průměrné hodnoty skupin v jednotlivých časových intervalech a jejich 95 % intervaly spolehlivosti.

OBECNÉ TRENDY POZOROVANÉ VE ZMĚNÁCH CHOVÁNÍ MYŠÍ BĚHEM OFT

(BEZ OHLEDU NA EXPERIMENTÁLNÍ PODMÍNKY)

Trendy ve změnách četnosti jednotlivých sledovaných projevů chování

PANÁČEK – U většiny jedinců byla patrná tendence k nárůstu četnosti panáčkování v čase; tento trend byl pozorován u 30 jedinců, tj. u 77% zvířat.

VÝSKOKY – U většiny jedinců byl patrný trend odpovídající nárůstu četnosti výskoků v čase; trend byl pozorován u 35 jedinců, tj. u 90 % zvířat.

OPŘENÍ – U většiny jedinců došlo k poklesu četnosti projevu opření o stěnu; trend byl pozorován u 32 jedinců, tj. u 82% zvířat.

HRABÁNÍ – U tohoto chování byl zaznamenán spíše pokles četnosti projevů v čase; pokles byl zaznamenán u 26 jedinců, tj. u přibližně 67% zvířat.

OČICHÁVÁNÍ – U většiny testovaných zvířat byl v čase zaznamenán pokles této aktivity; trend byl patrný u 30 jedinců, tj. u 77% zvířat.

GROOMING – V průběhu testu došlo u naprosté většiny jedinců k nárůstu groomingu v čase; trend byl pozorován u 37 jedinců, tj. u téměř 95% zvířat.

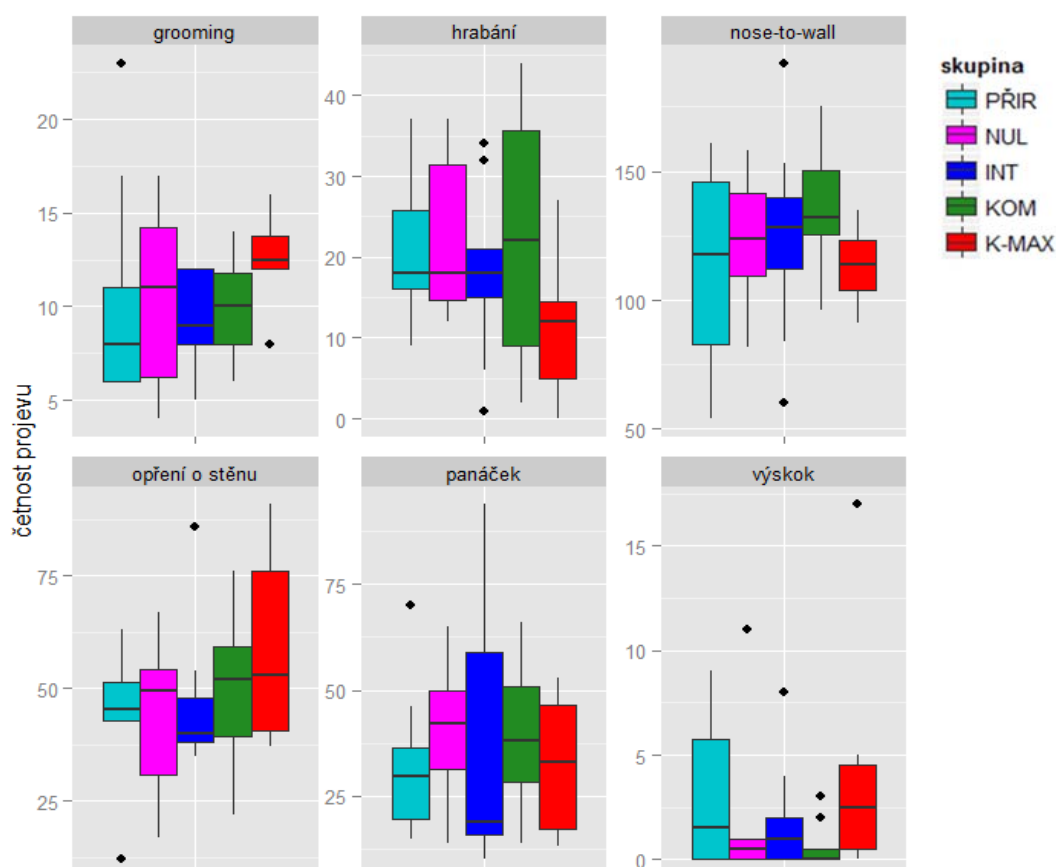
VLIV PODMÍNEK MAGNETICKÉHO POLE NA CHOVÁNÍ MYŠÍ BĚHEM OFT

Vliv podmínek magnetického pole na četnosti projevů sledovaných prvků chování během OFT

Prvních 20 minut OFT. Výsledky jednofaktorové analýzy rozptylu nepodpořily alternativní hypotézu vlivu podmínek magnetického pole na četnost hodnocených prvků chování v prvních 20 minutách OFT (viz graf č. 8).

Posledních 20 minut OFT. Z výsledků jednocestné analýzy rozptylu (ANOVA) vyplývá, že většina hodnocených projevů chování nebyla v posledních 20 minutách OFT experimentálními podmínkami ovlivněna. Jako statisticky významný byl vyhodnocen pouze rozdíl v četnostech kontaktu se stěnou (nose-to-wall) mezi skupinami, které byly vystaveny odlišným podmínkám magnetického pole (ANOVA; $F = 2.878$, $p = 0.0373$). Post-hoc test ukázal signifikantní rozdíl v četnostech tohoto projevu mezi skupinami NUL (skupina zvířat pohybujících se v „nulovém“ poli) a KOM (skupina zvířat vystavených komplexnímu magnetickému poli) (TukeyHSD test; $p = 0.019$). Chování zvířat z jednotlivých skupin v posledních 20 minutách OFT ilustruje graf č. 9.

Graf 8 Vliv magnetických polí na chování myší v prvních 20 min OFT



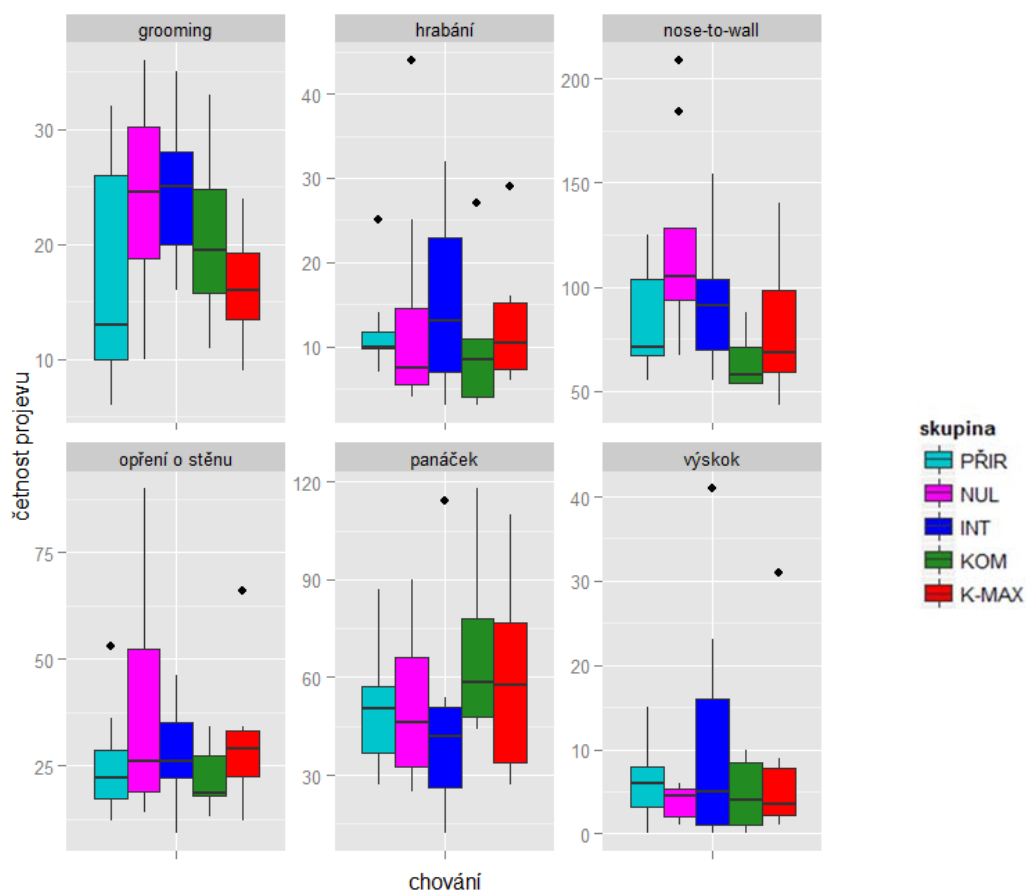
Naměřené četnosti sledovaných prvků chování testovaných myší v jednotlivých experimentálních skupinách a kontrolní skupině zvířat pohybujících se v přirozeném geomagnetickém poli (PŘIR) v prvních 20 minutách OFT. Boxplot znázorňuje medián, horní, dolní kvartil a maximální hodnoty četností v dané skupině.

Vliv podmínek magnetického pole na změny chování myší v průběhu OFT

Interakce času a podmínek magnetického pole

Marginální model, který umožňuje stanovit vliv faktorů působících mezi subjekty (podmínky magnetického pole) a uvnitř subjektů (čas), dle očekávání potvrdil, že u všech hodnocených parametrů chování byl vliv času na četnost projevů statisticky významný bez ohledu na podmínky magnetického pole. U projevů kontakt se stěnou (nose-to-wall), grooming a hrabání bylo při této statistické analýze dosaženo signifikantních výsledků, které podporují hypotézu, že vliv podmínek magnetického pole může mít vliv na změny chování myší v průběhu OFT. Hodnocení bylo založeno na datech naměřených během prvních a posledních 20 minut OFT.

Graf 9 Vliv magnetických polí na chování myší v posledních 20 min OFT



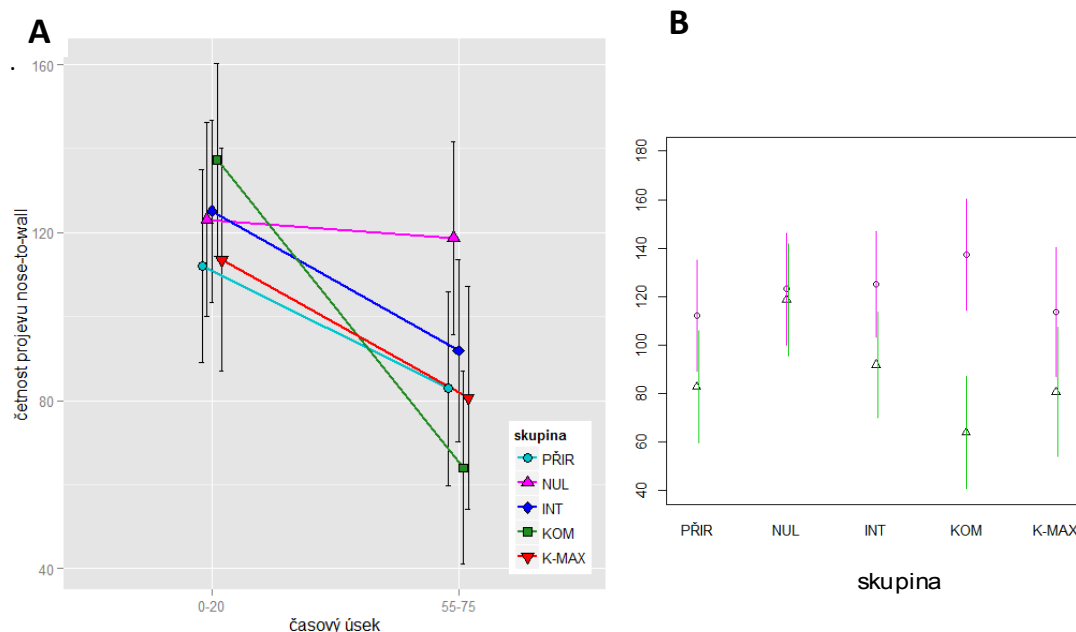
Naměřené četnosti sledovaných prvků chování testovaných myší v jednotlivých experimentálních skupinách a kontrolní skupině zvířat pohybujících se v přirozeném geomagnetickém poli (PŘIR) v posledních 20 minutách OFT. Boxplot znázorňuje medián, horní a dolní kvartil. Signifikantní rozdíl byl zjištěn v četnostech kontaktu se stěnou – nose-to-wall mezi skupinami NUL a KOM. Boxplot znázorňuje medián, horní, dolní kvartil a maximální hodnoty četností v dané skupině.

Vliv podmínek magnetického pole na změny četnosti očichávání stěn arény v čase

Jak bylo uvedeno výše, chování zvířat se v čase významně měnilo. U projevu očichávání však nebyl vliv času průkazný ve skupině vystavené „nulovému“ poli. Přestože samotný faktor magnetického pole celkově neměl na četnost kontaktu se stěnou (nose-to-wall) vliv (skupiny se mezi sebou nelišily v četnostech tohoto parametru), podle použitého marginálního modelu lze za statisticky významnou považovat interakci času a podmínek magnetického pole (Marginální model založený na metodě GLS; $p = 0.008$). Konkrétně byl jako signifikantní vyhodnocen vliv magnetického pole na změnu četnosti kontaktu se stěnou v čase u skupiny KOM. Interakce času a komplexního magnetického stimulu byla u této skupiny významně odlišná od interakcí času a podmínek magnetického pole zjištěných u skupin PŘIR a NUL. Ve skupině KOM došlo v čase k signifikantnímu poklesu četnosti očichávání oproti těmto

skupinám. Změny četnosti kontaktu se stěnou v jednotlivých skupinách znázorňuje graf č. 10 (A,B). V tabulce č. 8 jsou uvedeny p-hodnoty udávající míru statistické významnosti rozdílů pozorovaných mezi jednotlivými skupinami zvířat.

Graf 10 (A,B) Vliv magnetických polí na průběh změn v četnostech kontaktu se stěnou během OFT



Různá znázornění změn v četnostech kontaktu myši se stěnou v průběhu OFT. Zaznamenán byl statisticky významný rozdíl mezi skupinou NUL a KOM. Znázorněny jsou průměrné hodnoty četností jednotlivých skupin myši v prvních a posledních 20 minutách. Úsečky na obou grafech značí 95% intervaly spolehlivosti. B) o - střední hodnoty v prvních 20 minutách, Δ - střední hodnoty v posledních 20 minutách OFT.

Tabulka 8 Kontakt se stěnou arény (nose-to-wall) - vliv interakce času a podmínek magnetického pole

	PŘIR	NUL	INT	KOM	K-MAX
PŘIR		0.306	0.857	0.009	0.492
NUL	0.306		0.219	0.000	0.105
INT	0.857	0.219		0.012	0.590
KOM	0.009	0.000	0.012		0.077
K-MAX	0.492	0.105	0.590	0.077	

Tabulka udává p-hodnoty koeficientů, které vyjadřují rozdíly ve vlivu jednotlivých magnetických polí na změny četností čelního kontaktu myši se stěnou – nose-to-wall během OFT. Statisticky významný rozdíl vlivu interakce času a magnetického pole projev chování nose-to-wall byl zaznamenán mezi skupinami: KOM a PŘIR, KOM a NUL.

Vliv podmínek magnetického pole na změny četnosti (self-)groomingu v čase

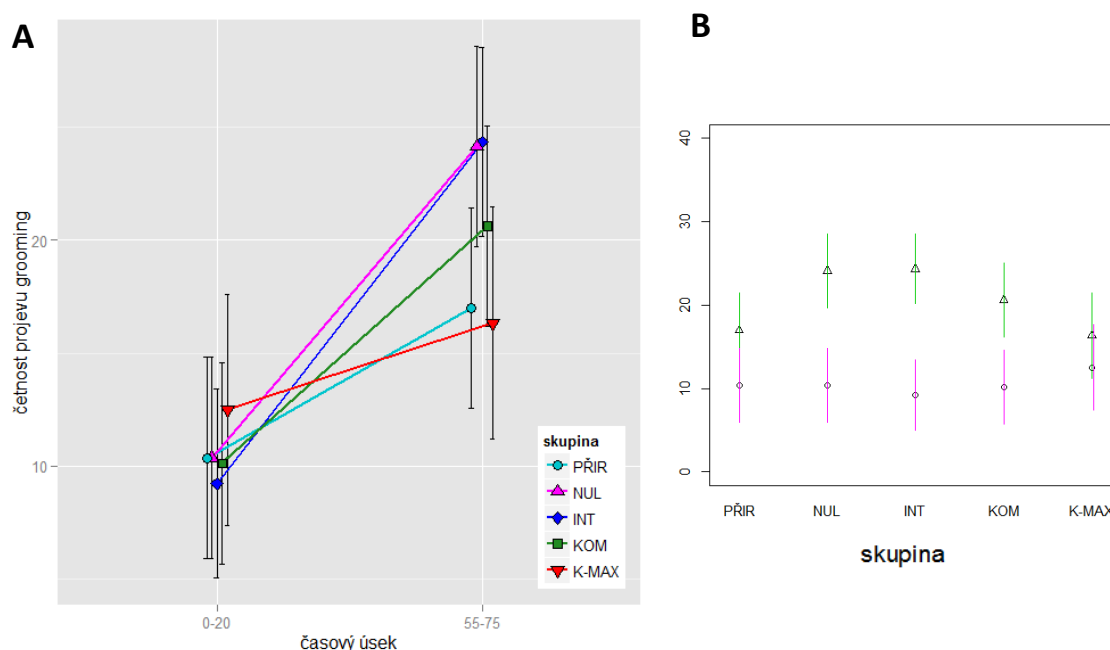
Podmínky magnetického pole měly statisticky významný vliv na průběh změn v četnostech projevů groomingu v průběhu OFT (Marginální model založený na metodě GLS; $p = 0.011$). Jako statisticky významný byl vyhodnocen rozdíl ve změnách groomingu v čase mezi skupinami NUL a PŘIR, NUL a K-MAX, a dále mezi skupinami INT a PŘIR, INT a K-MAX. Ve skupinách NUL a INT došlo k signifikantně většímu nárůstu četnosti groomingu v čase oproti skupinám PŘIR a K-MAX. Ostatní skupiny se mezi sebou významně nelišily. Výsledky statistického hodnocení jsou uvedeny v tabulce č. 9. Pozorovaný vliv magnetických polí na grooming zříkat ilustruje graf č. 11 (A,B).

Tabulka 9 **Grooming vliv interakce času a podmínek magnetického pole**

	PŘIR	NUL	INT	KOM	K-MAX
PŘIR		0.049	0.015	0.271	0.389
NUL	0.049		0.674	0.372	0.008
INT	0.015	0.674		0.183	0.002
KOM	0.271	0.372	0.183		0.063
K-MAX	0.389	0.008	0.002	0.063	

Tabulka udává p-hodnoty koeficientů, které vyjadřují rozdíly ve vlivu jednotlivých magnetických polí na změny četností projevů groomingu v čase. Statisticky významný rozdíl vlivu interakce času a magnetického pole na grooming myši byl zaznamenán mezi skupinami: NUL a PŘIR, NUL a K-MAX, INT a PŘIR, INT a K-MAX.

Graf 11 (A,B) Vliv magnetických polí na průběh změn v četnostech projevů groomingu během OFT



Různá znázornění změn v tendenci myší z jednotlivých skupin věnovat se groomingu, ke kterým došlo v průběhu OFT. Statisticky významné byly rozdíly mezi těmito skupinami: NUL a PŘIR, NUL a KOM, INT a PŘIR, INT a KOM. Znázorněny jsou průměrné hodnoty četností jednotlivých skupin myší v prvních a posledních 20 minutách. Úsečky na obou grafech značí 95% intervaly spolehlivosti. B) o - střední hodnoty v prvních 20 minutách, Δ - střední hodnoty v posledních 20 minutách OFT.

Vliv podmínek magnetického pole na změny četnosti hrabání v čase

Z hodnocení změn četností hrabání během OFT vyplynulo, že se toto chování u jednotlivých myší v čase neměnilo tolik, jako ostatní hodnocené prvky chování. Vliv samotného času byl menší než vliv času na ostatní projevy chování, přesto byl statisticky velmi významný ($p = 0.004$; ostatní projevy – vliv času: $p = <0001$). Bez interakce s časem byl jako signifikantní stanoven rozdíl v četnostech hrabání mezi skupinami PŘIR a K-MAX ($p=0.025$), NUL a K-MAX ($p=0.020$); statisticky významný byl v těchto případech vliv podmínek magnetického pole (bez interakce s časem). Výsledky dále odpovídají tomu, že podmínky magnetického pole ovlivnily změnu aktivity hrabání v čase během OFT u skupiny K-MAX. Interakce času a podmínek magnetického pole ve skupině K-MAX se významně lišila od interakce času a experimentálních podmínek u skupin PŘIR, NUL a KOM; změna v čase byla u skupiny K-MAX velmi nevýrazná. Střední hodnota četností byla u skupiny K-MAX vyšší v posledních 20 minutách OFT než střední hodnota četností v prvních 20 minutách. Výsledky statistického

hodnocení jsou uvedeny v tabulce č. 10. Změny v četnostech projevů hrabání zjištěné u jednotlivých skupin jsou zaznamenány v grafu č. 12.

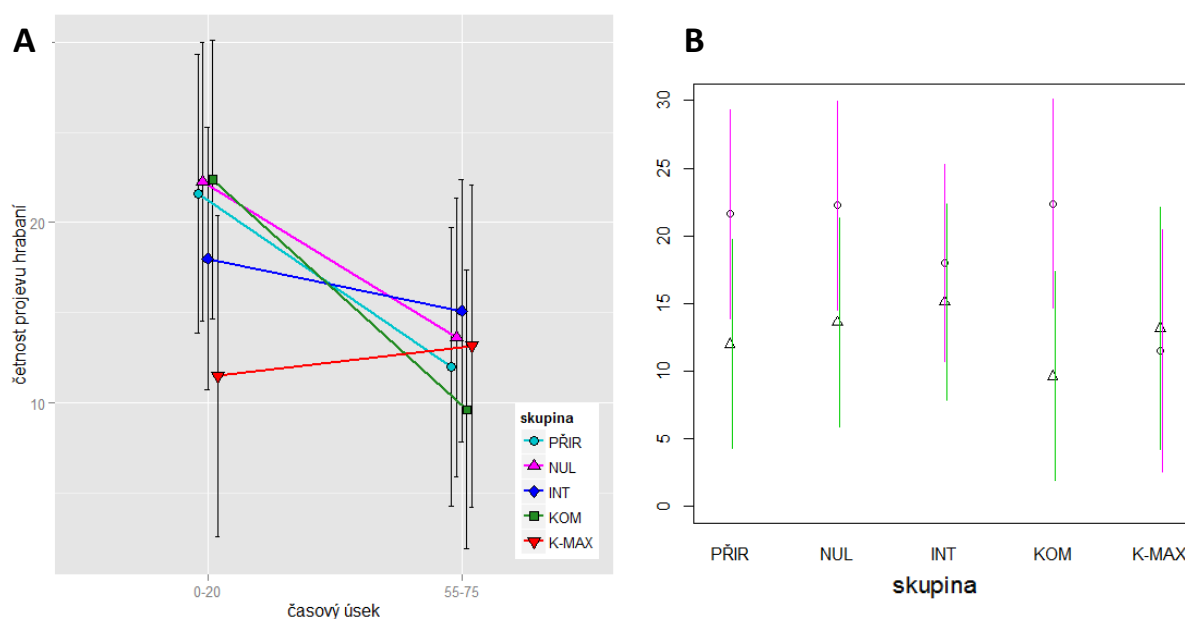
Tabulka 10 Hrabání

Vliv interakce času a podmínek magnetického pole

	PŘIR	NUL	INT	KOM	K-MAX
PŘIR		0.648	0.322	0.834	0.022
NUL	0.648		0.147	0.805	0.007
INT	0.322	0.147		0.229	0.144
KOM	0.834	0.805	0.229		0.014
K-MAX	0.022	0.007	0.144	0.014	

Tabulka udává p-hodnoty koeficientů, které vyjadřují rozdíly ve vlivu jednotlivých magnetických polí na změny četností hrabání v čase. Výsledek interakce času a komplexního pole s vyšší intenzitou, kterému byla vystavena skupina myši K-MAX, byl významně odlišný od interakce času a magnetických polí ve skupinách PŘIR, NUL a KOM.

Graf 12 (A,B) Vliv magnetických polí na průběh změn v četnostech projevů hrabání během OFT



Různá znázornění změn četností hrabání v jednotlivých skupinách myši, ke kterým došlo v průběhu OFT. Statisticky významné byly rozdíly mezi těmito skupinami: K-MAX a PŘIR, K-MAX a NUL, K-MAX a KOM. Znázorněny jsou průměrné hodnoty četností jednotlivých skupin myši v prvních a posledních 20 minutách. Úsečky na obou grafech značí 95% intervaly spolehlivosti. B) o - střední hodnoty v prvních 20 minutách, Δ - střední hodnoty v posledních 20 minutách OFT.

Explorativní analýza vlivu magnetických polí na chování myší v OFT (PCA - analýza hlavních komponent)

Protože observační metodou byly hodnoceny časové úseky představující prvních a posledních 20 min OFT i v případě PCA byly do grafů vyneseny tyto úseky.

Explorativní analýza ukázala značnou individuální variabilitu v chování myší zařazených do experimentu. Z grafů 13 A a 14 A je patrné, že chování myší bylo více ovlivněno individualitou jedinců než podmínkami magnetických polí (zejména v prvních 20 minutách OFT). Pokud by pole výrazně ovlivňovala charakter chování zvířat, jedinci z jednotlivých skupin by se navzájem v celkovém charakteru chování podobali, a na grafu by se body představující jednotlivá zvířata shlukovaly do klastrů. Ty by se navíc výrazně nepřekrývaly, pokud by byl efekt různých polí na chování myší odlišný.

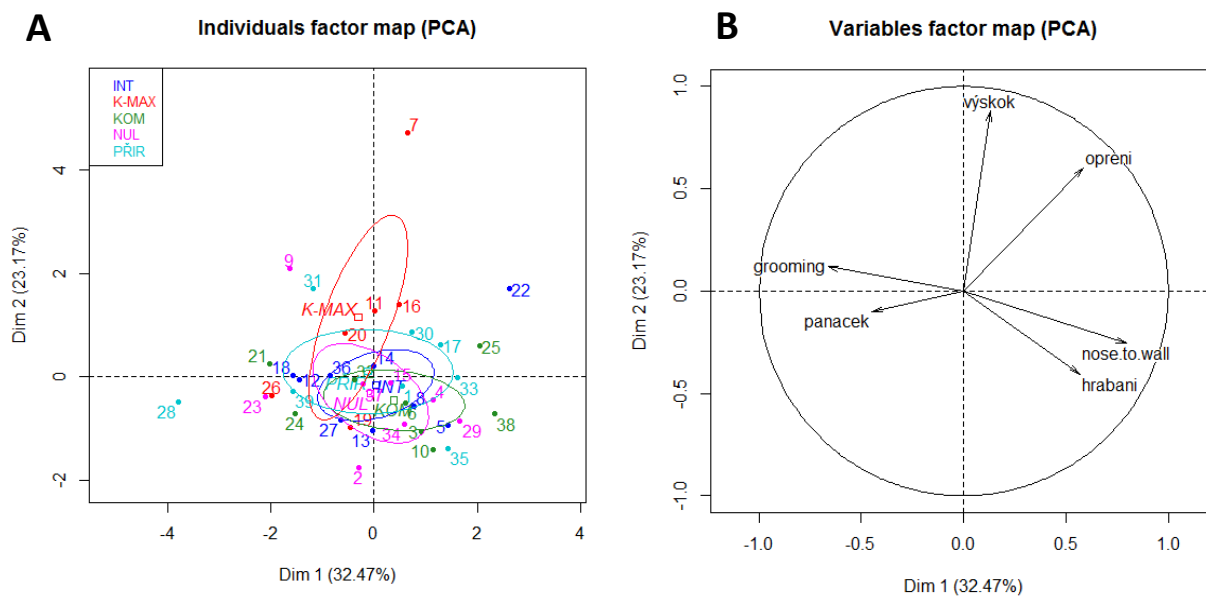
Na základě grafů 13 B a 14 B byly stanoveny dvě souhrnné proměnné sestávající z projevů, u kterých byla pozorována korelace značící jejich souvislost (může se jednat o obdobně motivované prvky chování). Teto přístup vychází z předpokladu, že některé prvky chování jsou u všech myší podobně závislé bez ohledu na experimentální podmínky, a že pak mohou být určitým magnetickým polem obdobně ovlivněny.

K1 - komponenta slučující četnosti hrabání a kontaktu se stěnou (nose-to-wall);

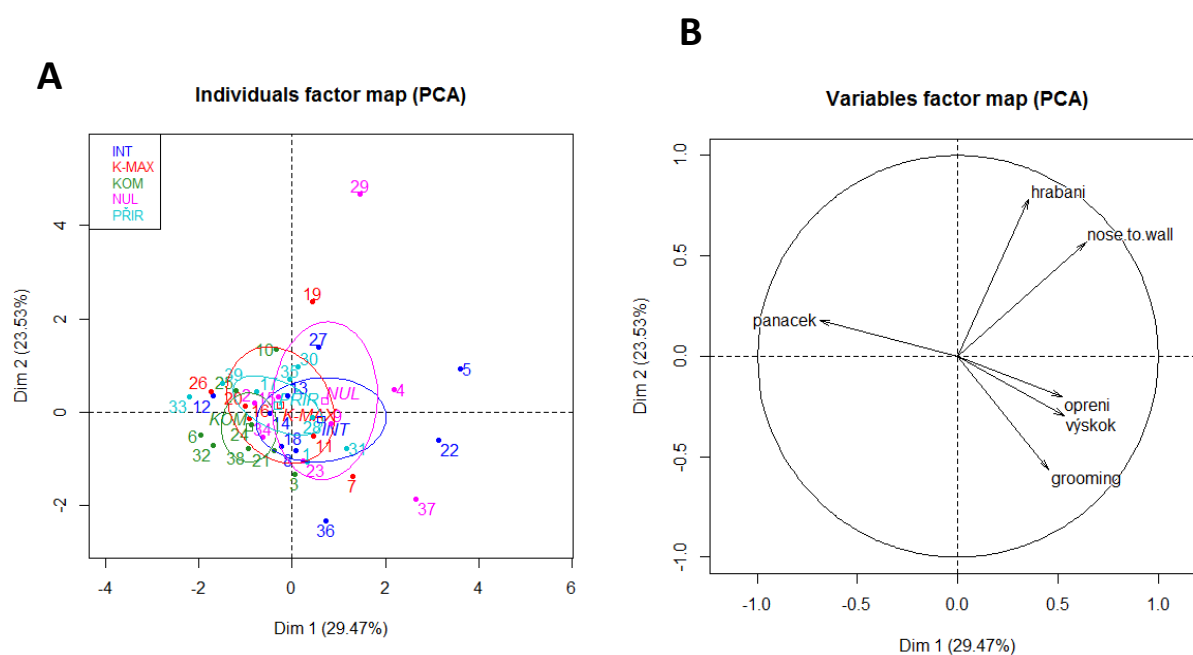
K2 – komponenta slučující četnosti výskoků a opření o stěnu arény.

Statisticky významný byl pouze rozdíl mezi skupinami KOM a NUL v posledních 20 minutách v chování charakterizovaném komponentou K2 (výskoky + opření o stěnu) (TukeyHSD test; $p = 0.045$).

Graf 14 (A,B) Individualita vs vliv experimentálních podmínek v prvních 20 minutách OFT (explorativní analýza dat)



Graf 14 (A,B) Individualita vs vliv experimentálních podmínek v posledních 20 minutách OFT (explorativní analýza dat)



DISKUZE

Zde prezentovaná etologicky zaměřená práce je součástí, pilotní studie zaměřené na vliv podmínek magnetických polí na myš laboratorního kmene C57BL/6J, hlodavce, jehož schopnost magnetorecepce již byla opakovaně přesvědčivě popsána (Muheim, Edgar et al. 2006, Phillips, Youmans et al. 2013). Celkově bylo našim cílem sledovat reakce zvířat na pobyt v různých magnetických polích během OFT trvajícího 75 minut jak na behaviorální úrovni, tak na úrovni neurální. Působení daného magnetického pole, popřípadě jeho změn v čase, na vybrané oblasti mozku, bylo hodnoceno na základě exprese genů časně odpovědi (c-Fos, Egr1) (Herdegen and Leah 1998). Výsledky a postup behaviorální analýzy vlivu podmínek různých magnetických polí na explorační aktivitu jsou uvedeny v předložené diplomové práci, výsledky analýzy neuronálních aktivit v diplomové práci Veroniky Bláhové (2014).

Magnetorecepce hlodavců byla popsána především na základě výsledků experimentů, během kterých byla sledována směrová preference zvířat v experimentálně manipulovaných polích, , nejčastěji v polích s přesměrovaným azimutem (Burda, Marhold et al. 1990, Deutschlander, Freake et al. 2003, Muheim, Edgar et al. 2006, Oliveriusová, Němec et al. 2012, Oliveriusová, Němec et al. 2014). Přestože našim cílem primárně nebyla snaha testovat projevy orientace zvířat během explorační v OFT, z hodnocení spontánní směrové preference vyplynulo, že magnetické pole s periodicky se měnící intenzitou (velikostí vektoru magnetické indukce) zřejmě významně ovlivnilo orientaci myši v počáteční fázi explorační. Taktéž byla patrná tendence k projevům magnetického alignmentu – spontánní bimodální směrové preference během prvních 5 minut u myši v přirozeném poli. S ohledem na zaměření a design experimentu jsou však pro nás zajímavější výsledky působení polí na jednotlivé prvky chování. Přestože rozdíly v chování mezi experimentálními skupinami navzájem a mezi experimentálními skupinami a skupinou kontrolní (zvířata explodující v přirozeném geomagnetickém poli) nebyly výrazné natolik, aby se dal učinit snadný závěr vypovídající o způsobu působení odlišných magnetických polí, je z níže diskutovaných výsledků patrné, že změny v přirozeném magnetickém poli mohou vyvolat reakci na behaviorální úrovni hlodavců. Před diskuzí získaných výsledků uvádím pro přehlednost některé behaviorální charakteristiky myši pozorované během OFT. Okrajově se také věnuji některým metodologickým aspektům etologických analýz. Předem je dobré si uvědomit, jaké projevy chování můžeme u zvířat sledovat v kontrolních podmínkách, a jaké chování, v jakém kontextu, může být ovlivněno experimentálními podmínkami. Proto nejprve uvedu trendy ve změnách chování myši v průběhu OFT, které bylo možné zaznamenat v různé míře téměř u všech testovaných jedinců, a které vypovídají o vývoji jejich neurobehaviorálního stavu

během experimentu a teprve následně se zaměřím na to, jaký vliv měly na uvedené trendy podmínky magnetického pole.

OBECNÝ CHARAKTER CHOVÁNÍ MYŠÍ V OFT

V OFT je zvíře, v typickém případě, paralelně vystaveno dvěma hlavními motivacím, které vyvolává pobyt v novém prostředí arény. Působí na něj jednak strach, proto se snaží ukrýt, drží se u stěny a vyhýbá se otevřenému prostoru ve středu arény, ale zároveň se u něj projevuje tendence prozkoumat neznámý prostor (Lister 1990). Typicky se strach projevuje nejvíce na začátku testu, posléze následuje fáze, kdy zvíře intenzivně exploruje, a současně postupně dochází k habituaci na nové prostředí.

Četnost jednotlivých prvků chování jsem hodnotila ve dvou časových úsecích odpovídající prvním a posledním 20 minutám OFT. Díky tomu bylo možné zhodnotit změny v chování myší, ke kterým došlo v průběhu testu a porovnat rozdíly v časovém průběhu explorační aktivity mezi experimentálními skupinami. Ačkoliv zvířata ve všech skupinách vykazovala značnou individuální variabilitu v četnostech projevů jednotlivých prvků chování, u všech zvířat byly patrné podobné tendence ke změnám chování v čase. Zejména změny v četnostech několika projevů byly pak selektivně ovlivněny podmínkami konkrétního magnetického pole (viz níže).

V průběhu OFT slábla u většiny zvířat tendence ke kontaktu se stěnou arény. Docházelo jak k poklesu opření se o stěnu, tak k poklesu očíhávání stěny (nose-to-wall). Dále byl pozorován pokles v četnosti hrabání, které bylo realizováno také nejčastěji v blízkosti stěny arény. Naproti tomu u převážné většiny zvířat byl v čase zaznamenán nárůst v četnosti panáčkování, výskoků proti stěně arény a self-groomingu (čištění). Aktivita, u níž došlo v průběhu OFT k poklesu (opření o stěnu, očíhávání stěny, hrabání) lze s velkou pravděpodobností označit za projevy explorační aktivity a pozorovaný trend pak odpovídá předpokládanému vývoji chování, který byl patrný také v dříve publikovaných studiích zaměřených na exploraci myší v OFT (Choleris, Thomas et al. 2001, Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003).

V různých pracích byly uvedeny rozdílné výsledky týkající se změn četnosti groomingu v čase. Je tedy otázkou, do jaké míry lze četnost groomingu brát jako spolehlivý ukazatel emocionality hlodavců (Archer 1973), a co nárůst groomingu v čase doopravdy znamená jak v kontextu samotného OFT, tak v kontextu působení experimentálních podmínek. Může se jednat o komfortní chování nebo naopak o formu přeskokového chování (Kalueff and Tuohimaa 2004). Také ve změnách četností panáčkování se uvedené práce liší.

Zatímco Choleris, Thomas et al. (2001) pozorovali nárůst panáčkování v čase, v jiném experimentu (Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003) byl obecně patrný pokles četnosti tohoto chování v čase u všech skupin testovaných zvířat, bez ohledu na experimentální podmínky. Průběh změn panáčkování během OFT tedy zřejmě také může odrážet různé motivace zvířat, které však nutně nemusí být protichůdné. Choleris, Thomas et al. (2001) uvádí, že počet projevů panáčkování se zvýšil pouze v rozích arény OFT a celkově aktivita spojená s explorační v průběhu testu poklesla. Pokud se zvíře častěji vztyčuje na zadních končetinách, může to znamenat, že projevuje menší míru anxiety (tj. četnost panáčkování v čase roste s poklesem anxiety). Toto chování však také bývá spojováno s explorační, a jeho pokles v čase lze chápat jako projev typický pro fázi vyšší habituace na nové prostředí, kdy zvíře již prozkoumalo své okolí, a není dále motivováno k podobným aktivitám. Výskoky proti stěně arény lze interpretovat jako projev stresu či snahu uniknout z prostoru arény. Protože četnost výskoků myši v našem experimentu v čase u většiny zvířat nepoklesla, a dokonce byla u většiny jedinců v posledních 20 minutách OFT vyšší, nezdá se (dle tohoto projevu), že by u nich došlo k výraznému utlumení stresu. Nelze též vyloučit, že k poklesu četnosti výskoků došlo v průběhu testu a až v posledních 20 minutách OFT zvířata proti stěně vyskakovala opět častěji.

Za účelem pokusit se zefektivnit hodnocení chování při zjišťování vlivů magnetických polí na myši v OFT, bylo během porovnávání získaných dat přistoupeno ke stanovení dvou souhrnných proměnných. Každá z nich vznikla sečtením četností některých z výše uvedených projevů. Také ve dvou předchozích, obdobných studiích (Choleris, Thomas et al. 2001)(Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003) byly pro potřeby etologické analýzy podobně určeny souhrnné proměnné. V prvním případě (Choleris, Thomas et al. 2001) autoři sečetli hodnoty naměřené pro pohyb během explorační a hodnoty pro chůzi (nebo běh) bez projevů explorační do souhrnné proměnné, charakterizující celkově pohyb (lokomoci) testovaných myši. V druhém případě (Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003) byly projevy: „explorační pohyb“, „panáčkování“ a „okusování okrajů arény“ společně zahrnuty do proměnné označené jako „explorační aktivita“. Je otázkou, do jaké míry je tento způsob hodnocení efektivní, když sami autoři (Choleris, Thomas et al. 2001) již v názvu své studie upozorňují na potřebu „detailní analýzy chování“. Nicméně je pravda, že sloučení některých projevů může být užitečné, protože nám může umožnit posoudit vliv sledovaného faktoru na vyladění zvířete, na jeho motivaci, která se projevuje několika možnými způsoby. Například motivace k exploračnímu chování v novém prostředí se může projevovat jako panáčkování, kontakt se stěnou nebo rychlejší pohyb. Aby však analýza byla smysluplná, je třeba sloučit projevy, které spolu

skutečně souvisejí. Je otázkou, zda spolu souvisí například okusování arény a panáčkování. Nemůže okusování představovat namísto explorační aktivity snahu zvířete uniknout z uzavřeného prostoru? Jeden ze způsobů jak posoudit, v jakém vztahu jsou dané projevy chování, je užití analýzy hlavních komponent (PCA, principal component analysis; příklad využití v (Carola, D'Olimpio et al. 2002).

Pomocí PCA bylo v případě mé analýzy rozhodnuto o společném hodnocení výskoků a opření o stěnu (souhrnná komponenta chování K1), a o společném hodnocení hrabání a očuchávání stěny (společná komponenta chování K2) (viz OBR). Není překvapivé, že se hodnoty těchto proměnných také změnily v čase (vznikly sečtením četností uvedených projevů). Výsledek využití PCA je však možná zajímavější z hlediska obecného posouzení toho, co které chování znamená. Při posouzení obou časových úseků zvláště se obě souhrnné proměnné jeví jako nezávislé. Obě komponenty lze hodnotit jako projevy explorační, je ale možné, že motivace je u každé této souhrnné charakteristiky chování jiná. Protože četnost výskoků v čase vzrostla, komponentu K1 můžeme dle mého názoru také interpretovat jiným způsobem – může se jednat o proměnnou vztahující se k nárůstu stresu nebo diskomfortu. Poté co zvíře pozná nové prostředí, převládá motivace dostat se pryč z podmínek, které jsou pro něj jistým způsobem stresující. Za zmínku taktéž stojí pozice groomingu a panáčkování na PCA diagramu. Panáčkování se dle výsledků zdá být ovlivněno protichůdným neurobehaviorálním stavem myši než výskoky a opření. Přitom jsou si tyto projevy podobné v tom, že zvíře „exploruje“ při vertikálním postavení těla. Grooming v prvních 20 minutách byl podle PCA chováním opačného charakteru než očuchávání stěny a hrabání. V tomto časovém úseku, který byl dost dlouhý na to, aby došlo k potlačení stavu anxiety vyvolaného zpočátku neznámým prostředím, mohl být grooming projevem klidových fází, kdy zvířata odpočívala. Naproti tomu v posledních 20 minutách ukázala PCA vztah závislosti mezi groomingem, výskoky a opřením o stěnu arény. Je možné, že v této fázi testu již grooming představoval projev přeskokového chování, např. stavu stresu, při kterém jsou tyto projevy u hlodavců také patrné (Kalueff and Tuohimaa 2004).

SELEKTIVNÍ PŮSOBNÍ MAGNETCKÝCH POLÍ NA URČITÉ PRVKY CHOVÁNÍ

U třech z šesti samostatně hodnocených projevů chování byl zaznamenán vliv určitého magnetického pole. Konkrétně se jednalo o hrabání, očichávání stěny, a grooming.

Hrabání a očichávání. Detailní analýza odhalila vliv magnetického pole jak na hrabání, tak na očichávání stěny. Ačkoliv metoda PCA ukázala možnou souvislost mezi těmito projevy, na každý z nich působily jiné změny parametrů magnetického pole. Vliv magnetického pole na hrabání byl pozorován u skupiny K-MAX, tj. zvířat vystavených komplexnímu magnetickému poli s vyššími hodnotami indukce (250 až -250 μ T). U zvířat z této experimentální skupiny nedošlo v čase k utlumení tendence věnovat se této aktivitě, tak jako u ostatních skupin. Již na začátku testu byla střední hodnota četnosti hrabání zjištěná u skupiny K-MAX znatelně nižší. V posledních 20 minutách pak byla dokonce nepatrně vyšší než na začátku testu, tedy v prvních 20 minutách. Interpretaci tohoto výsledku nicméně komplikuje fakt, že ve všech skupinách byly mezi jedinci velké individuální rozdíly v četnostech hrabání. Pokud bych k hodnocení rozdílů mezi skupinami použila místo středních hodnot mediány četností, takto významný rozdíl by patrný nebyl. Nicméně je možné, že střední hodnoty lépe zohledňují vyšší senzitivitu některých jedinců k určitým změnám v magnetickém poli. Výsledek vztahující se k hrabání myši ze skupiny vystavené magnetickému poli s periodicky se měnící hodnotou indukce (INT) nebyl shledán signifikantně odlišným od ostatních skupin v experimentu, nicméně bylo možno pozorovat obdobný trend změn četnosti jako u skupiny K-MAX. Je však možné se domnívat, že magnetického pole s měnící se intenzitou také slabě snížilo četnost hrabání zvířat v prvních 20 minutách, a podobně jako u skupiny K-MAX nedošlo u myši ze skupiny INT k výraznější změně tohoto chování v čase.

Grooming. Vývoj motivace k self-groomingu byl významně ovlivněn experimentálními podmínkami ve skupinách NUL a INT. U zvířat vystavených nulovému poli a zvířat, která se pohybovala v magnetickém poli s měnící se intenzitou, došlo k většímu nárůstu groomingu než u ostatních skupin. Jak bylo zmíněno výše, může zvýšená míra groomingu odrážet různé motivační stavy zvířete. Myši mohly být v těchto podmínkách vystaveny většímu stresu nebo se naopak cítit „konfortně“. Také se může jednat o sekundární jev způsobený poklesem explorační aktivity. Pokud zvířata méně explorační, mohou více času věnovat komfortnímu chování. Výrazný pokles explorační aktivity však nebyl u těchto skupin zaznamenán.

Ve skupině K-MAX byl nárůst groomingu v posledních 20 minutách OFT naopak vyhodnocen jako významně nižší než u skupin NUL a INT, avšak míra groomingu se nelišila od kontrolní skupiny zvířat pohybujících se během OFT v přirozeném lokálním geomagnetickém poli (skupina PŘIR). Malý rozdíl byl patrný mezi skupinou K-MAX a skupinou KOM (nesignifikantní výsledek). Je otázkou, zda byly pozorované rozdíly dány odlišným chováním zvířat ve skupině K-MAX, nebo spíše odlišností ostatních experimentálních skupin. Protože se

skupiny K-MAX a kontrolní skupina PŘIR nelišily, usuzují, že rozdíl byl spíše způsoben vlivem podmínek magnetického pole v ostatních experimentálních skupinách.

RYCHLOSTI

OFT je často využívaným prostředkem k posouzení vlivu nejrůznějších experimentálních podmínek (např. vlivu silného světla) a zvláště v současné době také k posouzení vlivu různých farmak a neuroaktivních látek (Pruet and Belzung 2003). Hodnocení míry celkové lokomoce vyjádřené celkovou vzdáleností, kterou zvíře v průběhu testu ušlo/uběhlo, případně rychlostí jeho pohybu, je jeden z nejjednodušších způsobů posouzení změn v aktivitě hlodavců. Tento přístup v minulosti opakovaně použili i autoři zabývající se vlivy magnetických polí na hlodavce (Rudolph, Kräuchi et al. 1985, Kavaliers and Ossenkopp 1986, Crabbe, Wahlsten et al. 1999, Heisler and Tecott 2000, PROLIČ, JANAČ et al. 2005).

Hodnota průměrné rychlosti vypočítaná pro časový úsek odpovídající celému OFT (75 min) nebyla v našem experimentu ovlivněna žádným z použitých magnetických polí. Vliv na průměrnou celkovou rychlost (tedy ani na uběhnutou vzdálenost) nebyl patrný ani v jednotlivých časových úsecích, které byly zvlášť hodnoceny.

Ve skutečnosti je však pohybová aktivita zvířete komplexní behaviorální projev, který je složen z většího množství navzájem různě závislých prvků. Z podrobnějších analýz pohybu vyplývá, že se jedná o projev zahrnující různé dílčí prvky chování, které mohou být odlišně řízeny, odlišně motivovány, a tudíž mohou být také odlišně ovlivněny různými faktory (Paulus, Dulawa et al. 1999). Proto jsem data dokumentující lokomoční aktivitu zvířat během našeho experimentu dále využila k hodnocení vlivu magnetických polí na rychlosti dvou odlišných typů pohybu – rychlost radiální a rychlost úhlovou (viz metodika). Z výsledků hodnocení vyplývá, že podmínky magnetických polí zřejmě mohou dle uvedeného předpokladu specificky působit na odlišné typy lokomoční aktivity. Vliv na obě složky rychlosti byl zaznamenán u skupiny K-MAX. Lze se domnívat, že jednotlivé složky rychlosti u této skupiny mohly být ovlivněny každá trochu jinak, protože navzájem nebyly u myši ze skupiny K-MAX korelovány stejně jako u skupin ostatních. Je třeba poznamenat, že ve všech skupinách byla v hodnotách rychlostí pozorována značná variabilita. Menší variabilita byla patrná právě u skupiny K-MAX.

Vzorce pohybu, které vypovídají o neurobehaviorálním stavu zvířete, jsou však ještě složitější. Ukázalo se, že kromě směru, geometrie dráhy pohybu (Paulus, Dulawa et al. 1999) a související průměrné rychlosti, která se vztahuje k danému způsobu lokomoce, je dobrým ukazatelem charakteru chování hlodavců v OFT periodicitu jejich pohybu. Tento pojem může být definován různě, ale jako vzorec střídání rychlého pohybu s fázemi, kdy se zvíře pohybuje

minimální rychlostí, tak jak byl popsán u potkanů (Tchernichovski and Golani 1995, Tchernichovski, Benjamini et al. 1998) a u myší (Drai, Kafkafi et al. 2001), vypovídá o způsobu, jakým tato zvířata poznávají nový prostor. Přičemž pomalý pohyb je typický pro detailnější prozkoumávání místa, na němž se zvíře v daný okamžik „zastaví“. O faktorech, které změni zmíněný vzorec lokomoční aktivity, lze uvažovat jako o faktorech působících na proces prostorového učení, a ne pouze na samotnou aktivitu. Míra aktivity jednotlivých zvířat i způsob poznávání prostředí je do jisté míry individuální záležitostí, nicméně popsáný vzor a progres v exploraci je specifický jak pro konkrétní živočišný druh, tak pro jednotlivé laboratorní kmeny (Drai, Kafkafi et al. 2001). Takto predikovatelné, vnitřně motivované chování je méně ovlivnitelné vnějšími podmínkami a může tedy dobře odrážet vliv faktorů působících přímo na motivaci, učení a prostorovou paměť (Drai, Kafkafi et al. 2001).

Přestože porovnání složek celkové rychlosti může být k posouzení charakteru chování zvířat v OFT užitečné, podrobnější analýzou pohybu můžeme dosáhnout ještě lepšího porozumění působení různých faktorů, tedy i podmínek magnetického pole. Protože v době vzniku této práce nebylo možné využít software (Drai, Benjamini et al. 2000, Drai and Golani 2001) umožňující efektivně hodnotit způsob explorace charakterizovaný výše zmíněným vzorcem lokomoční aktivity (střídáním progresivních fází rychlého pohybu a pomalejších fází intenzivního exploračního „skenování“ prostředí), ráda bych této možnosti využila do budoucna.

Výsledek hodnocení rozdílů mezi skupinami v thigmotaxi byl těsně nad hranicí signifikancí. Největší rozdíl byl patrný přibližně v polovině celkového časového úseku OFT (30-35 min) mezi skupinou myší vystavených právě poli s měnící se intenzitou (INT) a skupinou myší, které s pohybovali v nulovém poli (**GRAF**). Tento trend by mohl být hypoteticky výsledkem efektivnější orientace myší ve skupině INT, které mohly využít silného stimulu magnetického pole jako orientačního vodítka. Protože rychleji a lépe „zmapovali“ své okolí, snáze překonali stav úzkosti z neznámého prostředí, pro který je typická právě vysoká míra thigmotaxe, a trávily pak více času i ve středu arény. Naproti tomu zvířata v nulovém poli mohla být více dezorientovaná. Tento stav u nich mohl vyvolat vyšší míru anxiety projevující se vyšší mírou thigmotaxe. Zmíněná menší míra thigmotaxe, která byla také patrná přibližně v polovině časového úseku OFT u skupiny myší pohybujících se v komplexně se měnícím magnetickém poli (skupina KOM), však může být způsobena zcela jiným vlivem podmínek nepřírodných magnetických polí.

SMĚROVÁ PREFERENCE

Schopnost magnetorecepce v užším slova smyslu^a byla doposud prokazatelně popsána u čtyřech druhů fossoriálních (Burda, Marhold et al. 1990, Kimchi and Terkel 2001, Oliveriusová, Němec et al. 2012) a třech druhů epigeických hlodavců (Deutschlander, Freake et al. 2003, Muheim, Edgar et al. 2006, Oliveriusová, Němec et al. 2014). Během většiny těchto behaviorálních testů, se hlodavci volně pohybovali v aréně OFT, podobně jako v případě našeho experimentu. Na rozdíl od naší studie však byly tyto experimenty zaměřeny na hodnocení směrové preference zvířat. Ta byla sledována při stavbě hnízd a odpočinku. Proto byla zvířata, na rozdíl od námi testovaných myší, ponechána v aréně obvykle po dobu přibližně 12 h. Během testu měli hlodavci v takto koncipovaných experimentech navíc k dispozici materiál na stavbu hníзда. Stále není jisté, co způsobuje spontánní směrovou preferenci v magnetickém poli, která byla u hlodavců pozorována (Oliveriusová, Němec et al. 2012), čím je dán její směr, a jaký je její biologický význam. Nevíme, zda je přednostně volený směr vrozený a zároveň druhově specifický, nebo zda se jedná o směr naučený asociovaný s jinými podněty z vnějšího (případně vnitřního) prostředí (Oliveriusová, Němec et al. 2012). Tomu, že jsou hlodavci schopni využít magnetorepcepci k určení směru, který mají na základě předchozího učení podmiňováním spojen se specifickými podmínkami prostředí, odpovídají výsledky experimentů s křečíkem džungarským (*Phodopus sungorus*) (Deutschlander, Freake et al. 2003) a laboratorní myši kmene C57BL/6J (Muheim, Edgar et al. 2006). Myš tohoto konkrétního kmene (Phillips, Youmans et al. 2013) a podzemní hlodavec slepec *Spalax ehrenbergi* (Kimchi and Terkel 2001, Kimchi, Etienne et al. 2004) byli též podrobeni testům magnetické orientace při pohybu směrem k naučenému cíli v prostoru.

I my jsme jako modelový organismus pro studium magnetorecepce zvolili laboratorní myš kmene C57BL/6J. Jako v testech směrové orientace se zvířata ve fázi subjektivní noci pohybovala v kruhové aréně, jejíž rozměry odpovídaly rozměrům dříve použitých arén (např. (Burda, Marhold et al. 1990, Oliveriusová, Němec et al. 2014)). Nicméně protože náš experiment nebyl primárně zaměřen na testování směrové preference nebo prostorové orientace, způsob uspořádání experimentu se v dalších ohledech značně lišil. Proto jsem ani neočekávala, že se v chování zvířat bude projevovat směrová preference. Nepředpokládala jsem, že během 75 min nucené explorační v prázdném prostoru arény OFT, kde kromě stimulů v podobě experimentálních magnetických polí nepůsobily na zvířata žádné další podněty, budou myši motivované se orientovat. Níže však uvádím hypotetické příčiny, které by potenciálně mohly vést ke směrové preferenci námi testovaných myší. Existence těchto

^a Magnetorepcepci je zde míněna schopnost detekovat magnetické pole a orientovat se podle něj v prostoru. Na rozdíl od magnetorecepce se tzv magnetosenzitivita, citlivost k magnetickému poli, neprojevuje orientací zvířat, avšak může být taktéž zprostředkována mechanismy magnetorecepce.

potencionálních příčin mě vedla k tomu, že jsem pro úplnost celé analýzy chování, hodnotila taktéž směrovou preferenci myší, a to jak v přirozeném magnetickém poli, tak v polích experimentálních.

Za prvé, v úvahu přicházela možnost, že v chování zvířat bude patrná preference naučeného směru asociovaného s podnětem z prostředí chovu. Vliv by mohla mít samotná orientace chovných boxů (všechny byly natočeny stejným směrem, viz obr. X), nebo gradient světla v chovné místnosti, který sice sám o sobě nebyl výrazný, avšak zvířata měla přímý výhled na zdroje světla. Asociace polohy chovných boxů a gradietu světla se směrem vektoru magnetického pole byla u myší ostatně již popsána. A je obecně možné, že spontánní směrová preference pozorovaná jak u epigeických, tak u fossoriálních hlodavců jsou z větší části dány tendencí upřednostňovat v prostoru směr, který je pro ně mimo experimentální podmínky nějakým způsobem významný.

Také směr vložení zvířete do arény na začátku testu (všechna zvířata byla vkládána do středu arény ze severního směru), případně poloha budovy zázemí (poloha chovné místnosti), odkud byla každá myš do arény OFT přenesena lze pokládat za potencionální orientační vodítka, která by mohla být příčinou směrové preference testovaných myší. Pokud by například během transportu z budovy zázemí zvířata zaznamenávala směr, jakým jsou odnášena, pomocí magnetorecepce nebo mechanismů idiothetické orientace, mohla by pak projevit snahu vrátit se stejným směrem zpět, podobně jako při testech tzv. homingu (Mather and Baker 1981). Nicméně je otázkou, zda by zvířata opravdu byla stejně motivována vrátit se do chovného boxu, jako jsou motivovaná volně žijící zvířata k návratu do svého teritoria či hnízda.

Směrová preference savců byla pozorována především při odpočinku a u hlodavců i při stavbě hnízd (shrnutí v (Begall, Malkemper et al. 2013, Begall, Burda et al. 2014)). Pokud by během OFT námi testované myši vykazovaly směrovou preferenci, mohla by být patrná také právě při odpočinku. Sedmdesát pět minut OFT by teoreticky mohlo představovat dostatečně dlouhou dobu k tomu, aby bylo možné zaznamenat i delší odpočinek zvířat (Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003) nebo stavbu hnízda. Džungarští křečci si například ve většině případů stavěli hnízda již do hodiny od umístění do arény (Deutschlander, Freake et al. 2003). U myší nicméně takové chování v OFT popsáno nebylo, a neprojevovalo se ani u námi testovaných zvířat. Důvodem mohla být nepřítomnost hnízdního materiálu nebo přítomnost světla v prostředí. Nicméně samotné konstatování, že nebylo zřejmé, že by se zvířata na delší dobu zastavovala na jednom místě, k vyloučení směrové preference nestačí.

Obě uvedené alternativy projevu směrové preference – snahu pohybovat se ve zvoleném směru (v kontextu magnetorecepce projev magnetického kompasu) a nenáhodnou volbu místa k odpočinku (může se jedna i o projev magnetického alignmentu) můžeme zároveň testovat tak, že navzájem porovnáme množství času, které každý jedinec strávil (jakoukoliv aktivitou) v jednotlivých sektorech arény (viz metodika).

Výsledek hodnocení směrové preference myši v průběhu OFT odpovídal prvotnímu předpokladu – zvířata se v prostoru arény pohybovala náhodně. A pokud zvíře trávilo více času v určité části arény, jednalo se spíše o náhodnou preferenci nezávislou na vnějších podmínkách. Cirkulární statistická analýza sice přinesla několik signifikantních výsledků, nicméně je nelze interpretovat jako významné doklady orientace námi testovaných zvířat, protože zjištěné tendence setrvávat přednostně v určité části arény byly velmi slabé. Pouze jedna signifikantní a jedna marginálně signifikantní směrová preference byly výsledky získané neváženou cirkulární statistikou (pomocí Rayleighova testu). Je otázkou zda je v případě testování směrové preference lepší použít váženou nebo neváženou statistiku. Použitím vážené statistiky, můžeme zohlednit větší míru směrové preference některých jedinců. Ta může být v kontextu experimentů zaměřených na testování magnetorecepce dána větší senzitivitou konkrétních jedinců k podmínkám magnetického pole, pokud přítomné pole může poskytovat orientační informace. V kontextu našeho experimentu však není pravděpodobné, že by zjištěné signifikantní výsledky odrážely podobnou situaci. Důvodem je jednak to, že ve skutečnosti nebyla pozorována výrazná preference jednoho směru více jedinci jedné skupiny (případně dvou protilehlých směrů v případě bimodální orientace), a jednak také to, že se nedomnívám, že by charakter polí, kterým byla zvířata během OFT vystavena poskytoval dobrý referenční rámec pro prostorovou orientaci. Na zváženou je, co nám říká výsledek nevážené statistiky, podle kterého zvířata ze skupiny INT během prvních 20 minut trávila významně více času v jihozápadní části arény. Nevážená statistika může být v našem případě lepším ukazatelem skutečné směrové preference, nicméně není jasné, co tento výsledek znamená a zda mohla být směrová preference výsledkem působení magnetického pole, jehož intenzita se periodicky měnila, ale orientace jeho hlavního vektoru zůstávala stejná, shodná s orientací lokálního geomagnetického pole. Není také jasné, zda by současně něco mohl naznačovat marginálně signifikantní výsledek vztahující se k preferenci jihovýchodního směru v průběhu celého OFT zvířaty ze skupiny K-MAX.

Pokud výsledek směrové preference zvířat ve skupině INT není artefaktem, mohly by se myši v takovém poli nějakým způsobem orientovat? Uvedu pouze stručnou úvahu. Po

zvážení možnosti vzniku směrové preference na základě asociace jihozápadního směru s podnětem z experimentálního prostředí nebo s podnětem z prostředí chovu, jsem dospěla k názoru, že pozorovaná orientace zvířat nejspíš nemá žádnou spojitost s jinými podmínkami prostředí než s podmínkami OFT – prostorem arény a magnetickým polem. Vzhledem k charakteru pozorované preference – zvířata se orientovala jedním směrem (unimodálně) a pouze přechodně (v prvních 20 minutách), se nezdá, že by se mohlo jednat o projev spontánní směrové preference, jako projevu magnetického alignmentu (Begall, Malkemper et al. 2013). Výše uvádím, že zvíře, které není naučeno preferovat určitý směr, není k orientaci v prostém OFT motivováno. Tím ale byla myšlena orientace v kontextu prostředí mimo arénu. Během OFT však hlodavci poznávají vnitřní prostor arény. Aby byl tento proces efektivní, nepohybují se zcela náhodně. Naopak lze pozorovat systematický postup v exploračním chování (Tchernichovski and Golani 1995, Draí, Kafkafi et al. 2001), který zahrnuje i volbu „vztyčných“ bodů v prostoru – známých míst, odkud se zvíře vydává dále poznávat nové prostředí a postupně si vytváří vnitřní kognitivní mapu svého okolí (O'keefe and Nadel 1978). V případě, že nemá k dispozici jiná vnější vodítka, může využít idiothetickou orientaci, vlastní pachové značky a v přirozeném prostředí též geomagnetické pole. Právě místo, které si zvíře zvolí jako výchozí bod při exploraci, by teoreticky mohlo být přednostně vybíráno v jistém směru vůči vektoru magnetického pole.

EVOLUČNÍ VÝZNAM MAGNETORECEPCE

Dle doposud dosažených výsledků se zdá pravděpodobné, že potencionální schopnost magnetorecepce měl již společný předek všech obratlovců. Je však otázkou, zda magnetoreceptci skutečně aktivně využíval, případně jakým způsobem. Je teoreticky možné, že disponoval základy mechanismů magnetorecepce, které se v určité fázi evolučního vývoje staly vhodnými exaptacemi pro mechanismy magnetorecepce jednotlivých skupiny obratlovců^e, které se proto mohou více, či méně lišit. Dále se můžeme ptát: Zanikla u některých skupin obratlovců schopnost magnetorecepce v průběhu evoluce, nebo u nich ani nedošlo k dalšímu vývoji mechanismů, které ji mohou zprostředkovat? Došlo k rozvoji této schopnosti přednostně u migrujících živočichů, zatímco projevy magnetorecepce živočichů žijících trvale na jednom místě jsou víceméně rudimentální povahy? Pokud se zaměříme konkrétně na hlodavce, nabízí se podobná otázka: Je magnetorecepce rozvinutější u

^e Určité mechanismy magnetorecepce, jež se v průběhu evoluce staly exaptacemi pro další vývoj tohoto „šestého smyslu“ živočichů měl zřejmě společný předek mnohem větší fylogenetické skupiny než pouze skupiny obratlovců Kirschvink, J. L., M. M. Walker and C. E. Diebel (2001). "Magnetite-based magnetoreception." *Current opinion in neurobiology* 11(4): 462-467..

fossoriálních druhů hlodavců, zatímco epigeičtí zástupci této skupiny magnetické pole k orientaci v přirozených podmínkách běžně nepoužívají?

Phillips, Muheim a Jorge navrhli hypotézu využití přirozeného geomagnetického pole živočichy jako prostorového vodítka i při orientaci na krátkých vzdálenostech (Phillips, Jorge et al. 2010). Na příkladu hlodavce tito autoři uvádějí, jak by mohl živočich při poznávání nového prostředí nebo při orientaci ve vlastním teritoriu, kdy potřebuje například rozpoznat místo úkrytu potravy, využít na světle závislou magnetorecepci. Bez ohledu na to, že stále nevíme jaký je mechanismus detekce magnetického pole, není těžké si představit, že magnetorecepce ve spojení s ostatními smysly může poskytovat užitečné informace všem živočichům, ne jen těm migrujícím nebo podzemním. Tomu, že schopnost detekce magnetického pole představuje formu smyslového vnímání, odpovídají práce zaměřené na studium neurálního substrátu magnetorecepce (Němec, Altmann et al. 2001, Burger, Lucová et al. 2010). Výsledky těchto prací ukázaly, že informace, které získává prostřednictvím magnetorecepce rypoš druhu *Fukomys anselli*, jsou stejně jako jiné smyslové vjemy zpracovávány na subkortikální úrovni, konkrétně ve středím mozku (Němec, Altmann et al. 2001), a dále v oblastech, kde dochází k vytváření vnitřní kognitivní mapy zvířete (oblasti limbického systému; především hippocampus) (Burger, Lucová et al. 2010). V těchto mozkových centrech, umožňujících multisenzorické vnímání prostředí, mohou být informace získané detekcí magnetického pole propojeny s informacemi získanými prostřednictvím ostatních smyslů.

OBECNÁ DISKUZE – SROVNÁNÍ DOSAŽENÝCH VÝSLEDKŮ S VÝSLEDKY DŘÍVE PUBLIKOVANÝCH STUDIÍ

Komplexnost problematiky působení magnetických polí na živočichy a mnoho nevyjasněných otázek týkajících se tohoto tématu činí interpretaci změn v chování hlodavců vystavených různým experimentálním polím značně nesnadnou. Přitom právě etologický přístup k hodnocení působení různých experimentálních magnetických polí v kombinaci s analýzou reakcí na podmínky magnetických polí na neurální úrovni může pomoci lépe porozumět magnetorecepci, případně samotným vlivům nepřirozených magnetických polí na živočichy včetně člověka.

Obecně bylo provedeno málo experimentů podobných tomu, který jsme uskutečnili my. Doposud bylo publikováno pouze velmi omezené množství studií zaměřených přímo na

vliv magnetických polí na neurální aktivitu hlodavců (Semm, Schneider et al. 1980, Němec, Altmann et al. 2001, Burger, Lucová et al. 2010, Tryon, Kim et al. 2012). Nepřímými metodami (měřením nocicepční odpovědi, podáním specifických neuromodulátorů), i ve spojení se sledováním chování zvířat, byl zjišťován vliv různých nepřirozených magnetických polí na vegetativní funkce organismu hlodavců (např. (Del Seppia, Luschi et al. 2000, Shupak, Hensel et al. 2004, Prato, Desjardins-Holmes et al. 2009, Prato, Desjardins-Holmes et al. 2013)). Vliv projevující se na této úrovni by mohl být dle různých hypotéz zprostředkován například působením magnetických polí na opioidní systém (Prato, Carson et al. 1995) nebo na pineální žlázu produkující melatonin (Ossenkopp, Kavaliers et al. 1983). Někteří autoři se věnovali detailněji i samotnému chování hlodavců v podmínkách měnícího se magnetického pole (např. (Rudolph, Kräuchi et al. 1985, Sienkiewicz, Bartram et al. 2001, PROLIĆ, JANAĆ et al. 2005, Janac, Selakovic et al. 2012); zejména pak (Choleris, Thomas et al. 2001, Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003)). Výsledky jednotlivých studií zaměřených na vliv magnetických polí na hlodavce však lze obtížně porovnávat jak vzájemně, tak s výsledky mé analýzy. Důvodem je, že se jedná o výsledky hodnocení experimentů, které se často velmi liší v různých aspektech jejich uspořádání. Rozdílné závěry pak mohou být dány především parametry použitých magnetických polí, délkou působení experimentálních podmínek na zvířata, ale také například denní fází, ve které konkrétní test probíhal. Pokud je mi známo, nebyla zatím provedena žádná studie, která by spojovala detailní etologické hodnocení projevů působení magnetických polí se studiem magnetorecepce/magnetosenzitivity na neuronální úrovni tak, jako naše studie, jejíž součástí je zde uváděná behaviorální analýza.

Hodnocení chování myší laboratorního kmene C57BL/6J během našeho experimentu ukázalo, že všechna pole, jejichž vliv jsme testovali, mohou pravděpodobně ovlivnit chování těchto hlodavců. Potencionálně tedy mohou působit i na další druhy hlodavců, savců či jiných obratlovců, v závislosti na tom, kteří živočichové sdílí stejné mechanismy magnetorecepce, či mají jiné shodné vlastnosti, které determinují jejich shodnou senzitivitu k obdobně se měnícím parametrům magnetického pole.

Z výsledků mé analýzy i z výsledků předchozích studií lze usoudit, že jsou hlodavci citliví jak ke změnám směru hlavního vektoru magnetického pole (klasické testy orientace pomocí magnetického pole: (Burda, Marhold et al. 1990, Deutschlander, Freake et al. 2003, Muheim, Edgar et al. 2006, Oliveriusová, Němec et al. 2012, Oliveriusová, Němec et al. 2014), reakce na rychle se měnící azimut pole na neurální úrovni: (Burger, Lucová et al. 2010), tak ke změnám jeho velikosti (tj. ke změnám intenzity pole) (Němec, Altmann et al. 2001, Prato, Desjardins-Holmes et al. 2013). Jak bylo uvedeno v úvodu (kap.) magnetická pole mohou

hypoteticky působit specificky – prostřednictvím mechanismů magnetorecepce, nebo nespecificky – např. ovlivněním iontových kanálů (shrnuje např. v (Del Seppia, Ghione et al. 2007)). Protože jsme testovali vliv magnetických polí podobajících se svými parametry polím, jejichž působení bylo na neurální úrovni zpracováno jako působení podnětů na jiné receptory smyslového vnímání (Němec, Altmann et al. 2001), přikláním se spíše k tomu, že pozorované vlivy magnetických polí byly zprostředkovány mechanismy magnetorecepce.

Nelze jednoduše posoudit, které experimentální pole mělo největší vliv. Spíše se zdá, že odlišné parametry pole a jejich změny působily na chování zvířat různým způsobem. Tomu odpovídá zjištění, že od kontrolní skupiny (PŘIR) se v některém z hodnocených parametrů významně lišila každá z experimentálních skupin včetně skupiny zvířat, které se během testu pohybovaly v hypomagnetickém prostředí (skupina NUL). V několika studiích byl pozorován vliv magnetických polí na lokomoční aktivitu, uváděnou především jako jeden z projevů exploračního chování (Rudolph, Kräuchi et al. 1985, Choleris, Thomas et al. 2001, Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003). V našem experimentu se vyšší aktivita projevila u skupiny zvířat vystavených během OFT komplexnímu magnetickému poli s hlavním vektorem postupně měnícím směr i velikost, která odpovídala maximálním hodnotám magnetické indukce (intenzity) $250 \mu\text{T}$. Větší rychlost byla pozorována v prvních 20 minutách testu a myši ze skupiny K-MAX se nejvíce lišily od skupiny zvířat v „nulovém“ poli (NUL). Pokud zvířata detekovala rychlé změny magnetického pole (změna směru a posléze i intenzity nastala jednou za sekundu; frekvence změn: 1 Hz), mohla být vystavena velmi silné stimulaci. Stav zvířete v podmínkách uvedeného komplexního pole by teoreticky bylo možné (zjednodušeně) přirovnat ke stavu, v jakém by se nacházel člověk v hlučném prostředí, ve kterém se nepříjemný zvuk ozývá postupně z různých stran, a on se přitom snaží zorientovat v neznámém prostředí. Také mohlo takové prostředí u myší vyvolávat stav silného diskomfortu nebo způsobovat jejich dezorientaci, která vedla ke zvýšení explorační aktivity projevující se vyšší rychlostí pohybu. Toto jsou samozřejmě pouze hypotetická vysvětlení. Nicméně skutečnost, že předběžné výsledky hodnocení vlivu magnetických polí na neurální úrovni ukazují sníženou expresi genů časné odpovědi v oblasti hipokampu právě u skupiny K-MAX, nasvědčují tomu, že podobně jako u striktně podzemních rypošů z čeledi Bathyergidae (Burger, Lucová et al. 2010) dochází i u myší k supresi exprese genů časné odpovědi, která je za normálních okolností spojena s explorační neznámého prostoru (např. (Handa, Nunley et al. 1993, Hess, Lynch et al. 1995))

Magnetické pole může živočichovi zprostředkovat poziční informace vypovídající jak o překonané vzdálenosti v prostoru (v severojižním směru), tak o směru jeho pohybu (viz

kap.). Změna vektoru magnetického pole odpovídá změně směru pohybu. Změna intenzity odpovídá přesunu v prostoru, přičemž změna o 1 μT odpovídá přesunu o více jak 200 km (Vanderstraeten and Burda 2012). Změna v řádech desítek μT za 1 s tedy v tomto kontextu reprezentuje velmi nepřírozený stimul, který může být na úrovni kortexu odfiltrován (Vanderstraeten and Burda 2012), to může být jedním z důvodů výše zmíněné suprese exprese genů časné odpovědi v hipokampu. Také rychlé změny směru hlavního vektoru mohou pro zvíře představovat „těžko interpretovatelný“ stimul. A to i z toho důvodu, že se z hlediska prostorové orientace jedná o podněty, které jsou v rozporu s vnímáním pohybu v prostoru prostřednictvím vestibulárního systému. Aktivita hlodavce může být teoreticky ovlivněna i na subkortikální úrovni, a zvíře se ani nemusí dostat do stresového stavu vyvolaného nepřírozenými „vjemy“. Nicméně projevem stresu a/nebo vyšší míry explorační způsobené dezorientací myši by mohl být též nižší pokles hrabání u zvířat ze skupiny K-MAX. Hrabání by také mohlo být projevem snahy uniknout z prostředí, které působí zvířeti diskomfort.

Na rozdíl od zvýšené aktivity myši vystavených během našeho experimentu komplexnímu magnetickému poli s vyšší intenzitou, byl opakovaně popsán opačný efekt oscilujících i specifických pulzních magnetických polí (Choleris, Thomas et al. 2001, Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003). Tento opačný efekt, tedy snížení aktivity, mohl být dán odlišným mechanismem působení těchto polí. Dalším rozdílem byla doba experimentu – v našem případě byly myši testovány ve fázi jejich subjektivní noci, kdy jsou hlodavci aktivní, zatímco experimenty uvedených studií byly realizovány ve světelné fázi dne, kdy jsou hlodavci pasivní. Protože magnetická pole působící na experimentální skupiny myši K-MAX a KOM, byla podobná, co se týká změn směru jejich hlavního vektoru, ale lišila se především intenzitou, mohou být uvedené změny v chování u zvířat ze skupiny K-MAX, které nebyly patrné u skupiny KOM, do značné míry připsány právě působení vyšší intenzity.

Dále jsem zjistila, že zvířata v „nulovém“ poli se pohybovala významně pomaleji a pohybem zřejmě netrávila tolik času, jako zvířata ze skupiny K-MAX. Zdá se tedy, že v našem případě hypomagnetické prostředí působilo podobně jako oscilující pole, jejichž efekt na aktivitu myši byl popsán dříve (Choleris, Thomas et al. 2001, Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003). V tomto kontextu je zajímavé, že Del Seppia, Luschi et al. (Del Seppia, Luschi et al. 2000), kteří testovali vliv magnetických polí na stresem navozenou nižší citlivost k bolesti (analgesie) myši, pozorovali během efekt oscilujícího magnetického pole a hypomagnetického prostředí. Tyto podmínky shodně tlumily stav analgesie u myši v experimentech studie uvedených autorů (Del Seppia, Luschi et al. 2000).

Výše zmíněné závěry, že magnetická pole snižují aktivitu myší v OFT, považují autoři studií, ve kterých byl tento efekt sledován, za výsledek působení oscilujících polí coby faktoru snižujícího míru stresu zvířat vystavených neznámému prostředí (Choleris, Thomas et al. 2001, Del Seppia, Mezzasalma et al. 2003). Stejně jako v případě vlivu hypomagnetického prostředí (Del Seppia, Ghione et al. 2007) připisují pozorované efekty nespecifickému působení oscilujících polí na biochemickou rovnováhu některých systémů (např. opioidního systému). Z hlediska magnetorecepce by oscilující a nulová magnetická pole mohla také představovat nepřírozené podmínky. Hypomagnetické prostředí může například na magnetoreceptory působit podobně jako prostředí se sníženou gravitací na vestibulární systém. Mohla by oscilující magnetická pole rušit magnetorecepci stejně jako radiofrekvenční pole, v důsledku čehož by mohlo dojít k jejímu „vypnutí“? Zvíře by v takové případě v oscilujícím a v „nulovém“ poli nedokázalo používat magnetické pole jak vodítko pro orientaci v prostoru. Výsledkem by pak hypoteticky mohla být snížená aktivita, jako projev nedostatečné motivace k exploraci v prostředí, kde se nemá podle čeho orientovat. (Lze namítnout, že zvíře může využít vlastních pachových značek nebo idiothetické orientace. V těchto podmínkách však může postrádat referenční orientační rámec). Této interpretaci nižší aktivity hlodavců v oscilujícím poli však neodpovídá například výsledek působení slabého magnetického pole oscilujícího s frekvencí 50 Hz na chování potkanů v OFT, u kterých byl pozorovaný efekt opačný – magnetické pole jejich aktivitu zvýšilo.

U nulového pole se kromě nižší aktivity projevila též tendence k vyšší míře thigmotaxe a vyšší nárůst groomingu v čase. Tyto výsledky jsou na první pohled značně protichůdné. Nižší aktivita v prvních 20 minutách OFT a vyšší nárůst groomingu v čase lze interpretovat jako projevy nižší emocionality zvířat. Naproti tomu vyšší tendence k thigmotaxi se jeví jako projev stavu anxiety. Dále u této skupiny nebyl patrný pokles očíhávání/kontaktu se stěnou (nose-to-wall) v čase. Přetrvávající motivace ke kontaktu se stěnou a tendence k vyšší míře thigmotaxe by mohly souviset, a dohromady by mohly vypovídat o nutkání myší v „nulovém“ poli prozkoumávat více prostředí OFT. Grooming by pak mohl být projev přeskokového chování v „z myšího pohledu“ „divném“ prostředí, kde se nemůže orientovat. Kontakt se stěnou může představovat snahu zvířat uniknout z nepříjemného prostředí nebo projev explorační, která je vyvolána potřebou najít prostorová vodítka v prostředí, které neposkytuje žádné poziční informace (obdobné interpretace tohoto chování uvedeny také v (Burger, Lucová et al. 2010).

Efekt magnetického pole projevující se změnami v četnostech očíhávání stěny byl ještě více patrný u skupiny KOM. U zvířat vystavených změnám směru hlavního vektoru

magnetického pole (bez změn v intenzitě) došlo oproti ostatním skupinám, kromě skupiny K-MAX, k významně vyššímu poklesu tohoto projevu v čase. Jednalo se o jediný výrazný projev působení komplexního magnetického pole na myši v OFT. Největší rozdíl byl patrný mezi skupinou KOM a skupinou NUL. Zajímavé je, že komplexní magnetické pole měnící v čase směr a nikoliv intenzitu (hodnota přibližně odpovídala hodnotě intenzity lokálního geomagnetického pole) způsobilo u rypošů druhu *Fukomys anselli* změnu chování projevující se také odlišnou mírou kontaktu se stěnou arény (Burger, Lucová et al. 2010). U rypošů bylo pozorováno zvýšení čelního kontaktu se stěnou. V rámci naší studie sice byla sice střední hodnota četnosti hrabání myši v komplexním poli se stálou intenzitou o něco vyšší v prvních 20 minutách OFT, nicméně tato hodnota nebyla významně odlišná od hodnot naměřených u ostatních skupin zvířat. Můj výsledek nemusí být nutně v rozporu s pozorováním Burgera et al. (2010). Protože experiment s rypoši probíhal pouze 1 hodinu, na rozdíl od našeho OFT, který trval 75 minut. Taktéž v experimentu s rypoši použita pole vytvářející více predikovatelný stimul (magnetické pole se periodicky měnilo, nebyla zařazena náhodná sekvence změn). K výraznému poklesu očíhávání stěny/čelnímu kontaktu se stěnou mohlo dojít až v posledních 20 minutách testu. Burger s kolegy navíc zřejmě neprováděl detailnější behaviorální analýzu a nehodnotil vliv magnetických polí na změny chování v čase. Kontakt se stěnou i u skupiny KOM mohl být projevem stresu a/nebo projevem vyšší motivace k exploraci. Vyšší pokles četnosti těchto projevů v měnícím se poli pak mohl být způsoben vyčerpáním zvířat nebo jejich rezignací, spíše než habituací na nové prostředí.

Výrazné změny v intenzitě magnetického pole při stálé, směrové orientaci jeho hlavního vektoru, která odpovídala orientaci vektoru lokálního geomagnetického pole, (skup. INT) působily stejně na projevy groomingu jako hypomagnetické prostředí (skup. NUL). Myši ze skupin NUL a INT projevovaly spíše odlišné tendence k thigmotaxi. Přestože výsledek byl pouze nad hranicí signifikance na grafu lze pozorovat jistý trend – zvířata v „nulovém“ poli projevovala přibližně v druhé třetině OFT vyšší míru thigmotaxe oproti ostatním skupinám myši a tendence držet se u stěny arény ve stejnou dobu spíše klesla u zvířat v poli s měnící se intenzitou.

ZÁVĚR

Z uvedených výsledků vyplývá, že specifické podmínky magnetických polí mohou ovlivnit explorační chování hlodavců v open field testu. Přestože pozorovaný efekt polí na laboratorní myš kmene C57BL/6J nebyl na behaviorální úrovni celkově příliš výrazný, detailní etologická analýza ukázala, že neobvyklé prostředí tvořené jak magnetickými poli s parametry proměnnými v čase, tak pole hypomagnetické („nulové“) mohou selektivně působit jak na lokomotorickou aktivitu, tak na určité projevy chování těchto hlodavců. Uvedená komplexní analýza by měla dále posloužit jako referenční materiál při posouzení vlivu magnetických polí na neurální substrát myši, respektive při studiu mechanismů magnetorecepce, schopnosti, která byla u tohoto druhu opakovaně popsána.

Literatura

- Archer, J. (1973). "Tests for emotionality in rats and mice: A review." *Animal Behaviour* 21(2): 205-235.
- August, P. V., et al. (1989). "Magnetic orientation in a small mammal, *Peromyscus leucopus*." *Journal of mammalogy*: 1-9.
- Batschelet, a kol. (1981). *Circular statistics in biology*, Academic Press London.
- Bahník, Š. (2013). *Metodologické aspekty aktivního vyhýbání se místu*. Karlova Univerzita v Praze, Přírodovědecká fakulta.
- Beason, R. C. a kol. (1987). "Magnetic responses of the trigeminal nerve system of the bobolink (*Dolichonyx oryzivorus*)." *Neuroscience Letters* 80(2): 229-234.
- Becker, G. (1976). "Reaction of termites to weak alternating magnetic fields." *Naturwissenschaften* 63(4): 201-202.
- Begall, S., et al. (2011). "Further support for the alignment of cattle along magnetic field lines: reply to Hert et al." *Journal of Comparative Physiology A* 197(12): 1127-1133.
- Begall, S., H. Burda and E. P. Malkemper (2014). "Magnetoreception in Mammals." *ADVANCES IN THE STUDY OF BEHAVIOR*, VOL 46 46: 45-88.
- Begall, S., E. Malkemper, J. Cervený, P. Nemec and H. Burda (2013). "Magnetic alignment in mammals and other animals." *Mammal Biol* 78: 10 - 20.
- Burda, H., S. Marhold, T. Westenberger, R. Wiltschko and W. Wiltschko (1990). "Magnetic compass orientation in the subterranean rodent *Cryptomys hottentotus* (Bathyergidae)." *Experientia* 46(5): 528-530.
- Burda, H., S. Marhold, T. Westenberger, W. Wiltschko and R. Wiltschko (1990). "Magnetic compass orientation in the subterranean rodent *Cryptomys hottentotus* (Bathyergidae, Rodentia)." *Experientia* 46: 528 - 530.
- Burger, T., M. Lucová, R. E. Moritz, H. H. A. Oelschläger, R. Druga, H. Burda, W. Wiltschko, R. Wiltschko and P. Němec (2010). "Changing and shielded magnetic fields suppress c-Fos expression in the navigation circuit: input from the magnetosensory system contributes to the internal representation of space in a subterranean rodent." *Journal of The Royal Society Interface* 7(50): 1275-1292.
- Carola, V., F. D'Olimpio, E. Brunamonti, F. Mangia and P. Renzi (2002). "Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice." *Behavioural Brain Research* 134(1-2): 49-57.
- Merritt, R., C. Purcell and G. Stroink (1983). "Uniform magnetic field produced by three, four, and five square coils." *Review of Scientific Instruments* 54(7): 879-882.
- Pekár, S. a kol. (2012). *Moderní analýza biologických dat 2*, Muni PRESS.

- Begall, S., et al. (2014). "Magnetoreception in Mammals." *ADVANCES IN THE STUDY OF BEHAVIOR*, VOL 46 46: 45-88.
- Begall, S., et al. (2008). "Magnetic alignment in grazing and resting cattle and deer." *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 13451 - 13455.
- Begall, S., et al. (2013). "Magnetic alignment in mammals and other animals." *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 78(1): 10-20.
- Betancur, C., et al. (1994). "Magnetic field effects on stress-induced analgesia in mice: modulation by light." *Neuroscience Letters* 182(2): 147-150.
- Blakemore, R. (1975). "Magnetotactic bacteria." *Science* 190(4212): 377-379.
- Boles, L. C. and K. J. Lohmann (2003). "True navigation and magnetic maps in spiny lobsters." *Nature* 421(6918): 60-63.
- Buchler, E. R. and P. J. Wasilewski (1985). *Magnetic remanence in bats. Magnetite Biomineralization and Magnetoreception in Organisms*, Springer: 483-487.
- Burda, H., et al. (1991). "Magnetic orientation in subterranean mole rats of the superspecies *Spalax ehrenbergi*: experiments, patterns and memory." *Isr J Zool* 37: 182-183.
- Burda, H., et al. (1990). "Sensory adaptations in subterranean mammals." *Progress in clinical and biological research* 335: 269.
- Burda, H., et al. (1990). "Magnetic compass orientation in the subterranean rodent *Cryptomys hottentotus* (Bathyergeridae)." *Experientia* 46(5): 528-530.
- Close, J. (2012). "Are stress responses to geomagnetic storms mediated by the cryptochrome compass system?" *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279(1736): 2081-2090.
- Červený, J., et al. (2011). "Directional preference may enhance hunting accuracy in foraging foxes." *Biology Letters* 7(3): 355-357.
- Davila, A., et al. (2003). "A new model for a magnetoreceptor in homing pigeons based on interacting clusters of superparamagnetic magnetite." *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C* 28(16): 647-652.
- Del Seppia, C., et al. (2007). "Pain perception and electromagnetic fields." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 31(4): 619-642.
- Del Seppia, C., P. Luschi, S. Ghione, E. Crosio, E. Choleris and F. Papi (2000). "Exposure to a hypogeomagnetic field or to oscillating magnetic fields similarly reduce stress-induced analgesia in C57 male mice." *Life Sciences* 66(14): 1299-1306.
- Del Seppia, C., L. Mezzasalma, E. Choleris, P. Luschi and S. Ghione (2003). "Effects of magnetic field exposure on open field behaviour and nociceptive responses in mice." *Behavioural Brain Research* 144(1-2): 1-9.

- Deutschlander, M. E., M. J. Freake, S. C. Borland, J. B. Phillips, R. C. Madden, L. E. Anderson and B. W. Wilson (2003). "Learned magnetic compass orientation by the Siberian hamster, *Phodopus sungorus*." *Animal behaviour* 65(4): 779-786.
- Drai, D., N. Kafkafi, Y. Benjamini, G. Elmer and I. Golani (2001). "Rats and mice share common ethologically relevant parameters of exploratory behavior." *Behav Brain Res* 125(1-2): 133-140.
- Deutschlander, M., et al. (1999). "Extraocular magnetic compass in newts." *Nature* 400(6742): 324-325.
- Deutschlander, M. E., et al. (2003). "Learned magnetic compass orientation by the Siberian hamster, *Phodopus sungorus*." *Animal Behaviour* 65(4): 779-786.
- Diebel, C. E., et al. (2000). "Magnetite defines a vertebrate magnetoreceptor." *Nature* 406(6793): 299-302.
- Eloff, G. (1951). "Orientation in the mole-rat cryptomys." *British Journal of Psychology. General Section* 42(1-2): 134-145.
- Engels, S., et al. (2014). "Anthropogenic electromagnetic noise disrupts magnetic compass orientation in a migratory bird." *Nature* 509(7500): 353-356.
- Etienne, A. S. and K. J. Jeffery (2004). "Path integration in mammals." *Hippocampus* 14(2): 180-192.
- Etienne, A. S., et al. (1986). "Short-distance homing of the golden hamster under conditions of darkness and light."
- Fleissner, G., et al. (2003). "Ultrastructural analysis of a putative magnetoreceptor in the beak of homing pigeons." *Journal of Comparative Neurology* 458(4): 350-360.
- Fleissner, G., et al. (2007). "A novel concept of Fe-mineral-based magnetoreception: histological and physicochemical data from the upper beak of homing pigeons." *Naturwissenschaften* 94(8): 631-642.
- Foley, L. E., et al. (2011). "Human cryptochrome exhibits light-dependent magnetosensitivity." *Nature communications* 2: 356.
- Freake, M. J. and J. B. Phillips (2005). "Light-Dependent Shift in Bullfrog Tadpole Magnetic Compass Orientation: Evidence for a Common Magnetoreception Mechanism in Anuran and Urodele Amphibians." *Ethology* 111(3): 241-254.
- Freire, R., et al. (2005). "Chickens orient using a magnetic compass." *Current Biology* 15(16): R620-R621.
- Gegear, R. J., et al. (2008). "Cryptochrome mediates light-dependent magnetosensitivity in *Drosophila*." *Nature* 454(7207): 1014-1018.
- Gegear, R. J., et al. (2010). "Animal cryptochromes mediate magnetoreception by an unconventional photochemical mechanism." *Nature* 463(7282): 804-807.
- Gould, J. L. (1982). "The map sense of pigeons." *Nature* 296(5854): 205-211.

- Gould, J. L., et al. (1978). "Bees have magnetic remanence." *Science* 201(4360): 1026-1028.
- Goudarzi, I., S. Hajizadeh, M. E. Salmani and K. Abrari (2010). "Pulsed electromagnetic fields accelerate wound healing in the skin of diabetic rats." *Bioelectromagnetics* 31(4): 318-323.
- Humans, W. H. Organization and I. A. f. R. o. Cancer (2002). *Non-ionizing Radiation: Static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields*, World Health Organization.
- Greif, S., et al. (2014). "A functional role of the sky's polarization pattern for orientation in the greater mouse-eared bat." *Nat Commun* 5.
- Guerra, P. A., et al. (2014). "A magnetic compass aids monarch butterfly migration." *Nat Commun* 5.
- Hanzlik, M., et al. (2000). "Superparamagnetic magnetite in the upper beak tissue of homing pigeons." *Biometals* 13(4): 325-331.
- Handa, R., K. Nunley and M. Bollnow (1993). "Induction of c-fos mRNA in the brain and anterior pituitary gland by a novel environment." *Neuroreport* 4(9): 1079-1082.
- Herdegen, T. and J. D. Leah (1998). "Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins." *Brain Research Reviews* 28(3): 370-490.
- Hess, U., G. Lynch and C. Gall (1995). "Regional patterns of c-fos mRNA expression in rat hippocampus following exploration of a novel environment versus performance of a well-learned discrimination." *The Journal of Neuroscience* 15(12): 7796-7809.
- Harada, Y. (2008). "The relation between the migration function of birds and fishes and their lagena function." *Acta Oto-laryngologica* 128(4): 432-439.
- Hart, V., et al. (2012). "Magnetic alignment in carps: evidence from the Czech Christmas fish market."
- Choleris, E., A. W. Thomas, M. Kavaliers and F. S. Prato (2001). "A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 25(3): 235-260.
- Janac, B., V. Selakovic, S. Rauš, L. Radenovic, M. Zrnic and Z. Prolic (2012). "Temporal patterns of extremely low frequency magnetic field-induced motor behavior changes in Mongolian gerbils of different age." *International journal of radiation biology* 88(4): 359-366.
- Kalueff, A. V. and P. Tuohimaa (2004). "Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research." *Brain Research Protocols* 13(3): 151-158.
- Kimchi, T., A. S. Etienne and J. Terkel (2004). "A subterranean mammal uses the magnetic compass for path integration." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(4): 1105-1109.
- Kimchi, T. and J. Terkel (2001). "Magnetic compass orientation in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*." *Journal of Experimental Biology* 204(4): 751-758.
- Kirschvink, J. L., M. M. Walker and C. E. Diebel (2001). "Magnetite-based magnetoreception." *Current opinion in neurobiology* 11(4): 462-467.

- Lister, R. G. (1990). "Ethologically-based animal models of anxiety disorders." *Pharmacology & Therapeutics* 46(3): 321-340.
- Mather, J. G. and R. R. Baker (1981). "Magnetic sense of direction in woodmice for route-based navigation." *Nature*.
- Muheim, R., N. M. Edgar, K. A. Sloan and J. B. Phillips (2006). "Magnetic compass orientation in C57BL/6J mice." *Learning & Behavior* 34(4): 366-373.
- Němec, P., J. Altmann, S. Marhold, H. Burda and H. H. A. Oelschläger (2001). "Neuroanatomy of magnetoreception: The superior colliculus involved in magnetic orientation in a mammal." *Science* 294(5541): 366-368 *PLoS One* 7(12): e51100.
- Hart, V., et al. (2013). "Directional compass preference for landing in water birds." *Frontiers in Zoology* 10(1): 38.
- Hart, V., et al. (2013). "Dogs are sensitive to small variations of the Earth's magnetic field." *Frontiers in Zoology* 10(1): 1-12.
- Holland, R. A., et al. (2010). "A nocturnal mammal, the greater mouse-eared bat, calibrates a magnetic compass by the sun." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(15): 6941-6945.
- Holland, R. A. and B. Helm (2013). "A strong magnetic pulse affects the precision of departure direction of naturally migrating adult but not juvenile birds." *J R Soc Interface* 10(81): 20121047.
- Holland, R. A., et al. (2006). "Navigation: Bat orientation using Earth's magnetic field." *Nature* 444(7120): 702-702.
- Horton, T. W., et al. (2011). "Straight as an arrow: humpback whales swim constant course tracks during long-distance migration." *Biology Letters* 7(5): 674-679.
- Jacklyn, P. and U. Munro (2002). "Evidence for the use of magnetic cues in mound construction by the termite *Amitermes meridionalis* (Isoptera: Termitinae)." *Australian Journal of Zoology* 50(4): 357-368.
- Jacklyn, P. M. (1992). "'Magnetic' termite mound surfaces are oriented to suit wind and shade conditions." *Oecologia* 91(3): 385-395.
- Jandačka, P., et al. (2013). "Hypothetical superparamagnetic magnetometer in a pigeon's upper beak probably does not work." *The European Physical Journal E* 36(4): 1-8.
- Karlsson, A. F. (1984). "Age-differential homing tendencies in displaced bank voles, *Clethrionomys glareolus*." *Animal Behaviour* 32(2): 515-519.
- Karpowicz, J. and K. Gryz (2006). "Health risk assessment of occupational exposure to a magnetic field from magnetic resonance imaging devices." *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics* 12(2): 155-167.
- Kavaliers, M. and F. S. Prato (1999). "Light-dependent effects of magnetic fields on nitric oxide activation in the land snail." *NeuroReport* 10(9): 1863-1867.

- Kimchi, T., et al. (2004). "A subterranean mammal uses the magnetic compass for path integration." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(4): 1105-1109.
- Kimchi, T. and J. Terkel (2001). "Magnetic compass orientation in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*." *Journal of Experimental Biology* 204(4): 751-758.
- Kirschvink, J. and J. Gould (1981). "Biogenic magnetite as a basis for magnetic field detection in animals." *Biosystems* 13(3): 181 - 201.
- Kirschvink, J. L. (2014). "Sensory biology: Radio waves zap the biomagnetic compass." *Nature* 509(7500): 296-297.
- KIRSCHVINK, J. L., et al. (1986). "Evidence from Strandings for Geomagnetic Sensitivity in Cetaceans." *Journal of Experimental Biology* 120(1): 1-24.
- Kirschvink, J. L. and J. L. Gould (1981). "Biogenic magnetite as a basis for magnetic field detection in animals." *Biosystems* 13(3): 181-201.
- Kirschvink, J. L., et al. (1992). "Magnetite biomineralization in the human brain." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89(16): 7683-7687.
- Kirschvink, J. L., et al. (2001). "Magnetite-based magnetoreception." *Current Opinion in Neurobiology* 11(4): 462-467.
- Klatzky, R. L. (1998). *Allocentric and egocentric spatial representations: Definitions, distinctions, and interconnections*. Spatial cognition, Springer.
- Klinowska, M. (1988). "Cetacean 'navigation' and the geomagnetic field." *Journal of navigation* 41(01): 52-71.
- Koziak, A. M., et al. (2006). "Light alters nociceptive effects of magnetic field shielding." *Bioelectromagnetics* 27(1): 10-15.
- Kramer, G. "Long-distance orientation." *Biology and comparative physiology of birds* 2 (1961): 341-371.
- Lauwers, M., et al. (2013). "An Iron-Rich Organelle in the Cuticular Plate of Avian Hair Cells." *Current Biology* 23(10): 924-929.
- Leask, M. (1977). "A physicochemical mechanism for magnetic field detection by migratory birds and homing pigeons."
- Liedvogel, M. and H. Mouritsen (2010). "Cryptochromes—a potential magnetoreceptor: what do we know and what do we want to know?" *Journal of The Royal Society Interface* 7(Suppl 2): S147-S162.
- Light, P., et al. (1993). "Geomagnetic orientation of loggerhead sea turtles: evidence for an inclination compass." *Journal of Experimental Biology* 182(1): 1-10.
- Lohmann, K. and C. Lohmann (1996). "Orientation and open-sea navigation in sea turtles." *J Exp Biol* 199(1): 73-81.

- Lohmann, K., et al. (1995). "Magnetic orientation of spiny lobsters in the ocean: experiments with undersea coil systems." *Journal of Experimental Biology* 198(10): 2041-2048.
- Lohmann, K. J. (1991). "Magnetic orientation by hatchling loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*)."
Journal of Experimental Biology 155(1): 37-49.
- Lohmann, K. J., et al. (2001). "Regional magnetic fields as navigational markers for sea turtles."
Science 294(5541): 364-366.
- Lohmann, K. J., et al. (2004). "Animal behaviour: geomagnetic map used in sea-turtle navigation."
Nature 428(6986): 909-910.
- Lohmann, K. J., et al. (2007). "Magnetic maps in animals: nature's GPS." *Journal of Experimental Biology* 210(21): 3697-3705.
- Lowenstam, H. A. (1962). "Magnetite in Denticle Capping in Recent Chitons (Polyplacophora)."
Geological Society of America Bulletin 73(4): 435-438.
- Madden, R. and J. Phillips (1987). "An attempt to demonstrate magnetic compass orientation in two species of mammals." *Animal Learning & Behavior* 15(2): 130-134.
- Maeda, K., et al. (2008). "Chemical compass model of avian magnetoreception." *Nature* 453(7193): 387-390.
- Mann, S., et al. (1988). "Ultrastructure, morphology and organization of biogenic magnetite from sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*: implications for magnetoreception." *Journal of Experimental Biology* 140(1): 35-49.
- Marhold, S., et al. (2000). "Spontaneous directional preference in a subterranean rodent, the blind mole-rat, *Spalax ehrenbergi*." *Folia Zoologica* 49(1): 7-18.
- Marhold, S., et al. (1997). "Magnetic orientation in common mole-rats from Zambia." *Orientation and navigation—birds, humans and other animals*: 5-1.
- Marhold, S., et al. (1991). "Magnetkompaßorientierung und Richtungspräferenz bei subterranean Graumullen, *Cryptomys hottentotus* (Rodentia)." *Verh. dt. zool. Ges* 84: 354.
- Marhold, S., et al. (1997). "A magnetic polarity compass for direction finding in a subterranean mammal." *Naturwissenschaften* 84(9): 421-423.
- Marshall, J. and T. W. Cronin "Polarisation vision." *Current Biology* 21(3): R101-R105.
- Martin, L. and M. Persinger (2005). "The influence of various pharmacological agents on the analgesia induced by an applied complex magnetic field treatment: a receptor system potpourri." *Electromagnetic Biology and Medicine* 24(2): 87-97.
- Mather, J. G. (1985). *Magnetoreception and the search for magnetic material in rodents. Magnetite biomineralization and magnetoreception in organisms*, Springer: 509-533.
- Mather, J. G. and R. R. Baker (1980). "A demonstration of navigation by small rodents using an orientation cage." *Nature* 284(5753): 259-262.

- Mather, J. G. and R. R. Baker (1981). "Magnetic sense of direction in woodmice for route-based navigation." *Nature*.
- Moore, A. and W. D. Riley (2009). "Magnetic particles associated with the lateral line of the European eel *Anguilla anguilla*." *Journal of Fish Biology* 74(7): 1629-1634.
- Mora, C. V. and V. P. Bingman (2013). "Detection of Magnetic Field Intensity Gradient by Homing Pigeons (*Columba livia*) in a Novel "Virtual Magnetic Map" Conditioning Paradigm." *PLoS One* 8(9): e72869.
- Mora, C. V., et al. (2004). "Magnetoreception and its trigeminal mediation in the homing pigeon." *Nature* 432(7016): 508-511.
- Moritz, R. E., et al. (2007). *Magnetic compass: a useful tool underground. Subterranean Rodents*, Springer: 161-174.
- Muheim, R., et al. (2002). "Magnetic compass orientation in European robins is dependent on both wavelength and intensity of light." *Journal of Experimental Biology* 205(24): 3845-3856.
- Muheim, R., et al. (2006). "Magnetic compass orientation in C57BL/6J mice." *Learning & Behavior* 34(4): 366-373.
- Müller, P. and M. Ahmad (2011). "Light-activated cryptochrome reacts with molecular oxygen to form a flavin–superoxide radical pair consistent with magnetoreception." *Journal of Biological Chemistry* 286(24): 21033-21040.
- Nießner, C., et al. (2013). "Magnetoreception: activated cryptochrome 1a concurs with magnetic orientation in birds." *Journal of The Royal Society Interface* 10(88).
- O'keefe, J. and L. Nadel (1978). *The hippocampus as a cognitive map*, Clarendon Press Oxford.
- Oliveriusová, L., et al. (2012). "Magnetic compass orientation in two strictly subterranean rodents: learned or species-specific innate directional preference?" *J Exp Biol* 215(20): 3649-3654.
- Oliveriusová, L., et al. (2014). "Spontaneous expression of magnetic compass orientation in an epigeic rodent: the bank vole, *Clethrionomys glareolus*." *Naturwissenschaften* 101(7): 557-563.
- Ossenkopp, K. P., et al. (1983). "Reduced nocturnal morphine analgesia in mice following a geomagnetic disturbance." *Neurosci Lett* 40(3): 321-325.
- O'keefe, J. and L. Nadel (1978). *The hippocampus as a cognitive map*, Clarendon Press Oxford.
- Oliveriusová, L., P. Němec, Z. Králová and F. Sedláček (2012). "Magnetic compass orientation in two strictly subterranean rodents: learned or species-specific innate directional preference?" *The Journal of experimental biology* 215(20): 3649-3654.
- Oliveriusová, L., P. Němec, Z. Pavelková and F. Sedláček (2014). "Spontaneous expression of magnetic compass orientation in an epigeic rodent: the bank vole, *Clethrionomys glareolus*." *Naturwissenschaften* 101(7): 557-563.
- Ossenkopp, K. P., M. Kavaliers and M. Hirst (1983). "Reduced nocturnal morphine analgesia in mice following a geomagnetic disturbance." *Neurosci Lett* 40(3): 321-325.

- Phillips, J. B., P. E. Jorge and R. Muheim (2010). "Light-dependent magnetic compass orientation in amphibians and insects: candidate receptors and candidate molecular mechanisms." *Journal of The Royal Society Interface* 7(Suppl 2): S241-S256.
- Phillips, J. B., P. W. Youmans, R. Muheim, K. A. Sloan, L. Landler, M. S. Painter and C. R. Anderson (2013). "Rapid Learning of Magnetic Compass Direction by C57BL/6 Mice in a 4-Armed 'Plus' Water Maze." *PLoS ONE* 8(8): e73112.
- Prato, F. S., J. I. Carson, K. Ossenkopp and M. Kavaliers (1995). "Possible mechanisms by which extremely low frequency magnetic fields affect opioid function." *The FASEB journal* 9(9): 807-814.
- Prato, F. S., D. Desjardins-Holmes, L. D. Keenlside, J. M. DeMoor, J. A. Robertson and A. W. Thomas (2013). "Magnetoreception in laboratory mice: sensitivity to extremely low-frequency fields exceeds 33 nT at 30 Hz." *Journal of The Royal Society Interface* 10(81): 20121046.
- PROLIĆ, Z., B. JANAĆ, V. PEŠIĆ and A. JELENKOVIĆ (2005). "The Effect of Extremely Low-Frequency Magnetic Field on Motor Activity of Rats in the Open Field." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1048(1): 381-384.
- Rudolph, K., K. Kräuchi, A. Wirz-Justice and H. Feer (1985). "Weak 50-Hz electromagnetic fields activate rat open field behavior." *Physiology & behavior* 35(4): 505-508.
- Semm, P., T. Schneider and L. Vollrath (1980). "Effects of an earth-strength magnetic field on electrical activity of pineal cells." *Nature* 288(5791): 607-608.
- Shupak, N. M., J. M. Hensel, S. K. Cross-Mellor, M. Kavaliers, F. S. Prato and A. W. Thomas (2004). "Analgesic and behavioral effects of a 100 μ T specific pulsed extremely low frequency magnetic field on control and morphine treated CF-1 mice." *Neuroscience letters* 354(1): 30-33.
- Sienkiewicz, Z. J., R. Bartram, R. G. Haylock and R. D. Saunders (2001). "Single, brief exposure to a 50 Hz magnetic field does not affect the performance of an object recognition task in adult mice." *Bioelectromagnetics* 22(1): 19-26.
- Perdeck, A. (1958). "Two types of orientation in migrating starlings, *Sturnus vulgaris* L., and chaffinches, *Fringilla coelebs* L., as revealed by displacement experiments." *Ardea* 46.
- Phillips, J. (1986). "Magnetic compass orientation in the eastern red-spotted newt (*Notophtalmus viridescens*)." *Journal of Comparative Physiology A* 158: 103 - 109.
- Phillips, J., et al. (1995). "True navigation by an amphibian." *Animal Behaviour* 50(3): 855-858.
- Phillips, J. and M. Deutschlander (1997). "Magnetoreception in terrestrial vertebrates: implications for possible mechanisms of EMF interaction with biological systems." *The Melatonin hypothesis: electric power and the risk of breast cancer*: 111-172.
- Phillips, J., et al. (2010). "A behavioral perspective on the biophysics of the light-dependent magnetic compass: a link between directional and spatial perception?" *J Exp Biol* 213: 3247 - 3255.

- Phillips, J. B. (1986). "Magnetic compass orientation in the Eastern red-spotted newt (*Notophthalmus viridescens*)." *Journal of Comparative Physiology A* 158(1): 103-109.
- Phillips, J. B., et al. (2001). "The role of extraocular photoreceptors in newt magnetic compass orientation: parallels between light-dependent magnetoreception and polarized light detection in vertebrates." *Journal of Experimental Biology* 204(14): 2543-2552.
- Phillips, J. B., et al. (2010). "Light-dependent magnetic compass orientation in amphibians and insects: candidate receptors and candidate molecular mechanisms." *Journal of The Royal Society Interface* 7(Suppl 2): S241-S256.
- Phillips, J. B. and O. Sayeed (1993). "Wavelength-dependent effects of light on magnetic compass orientation in *Drosophila melanogaster*." *Journal of Comparative Physiology A* 172(3): 303-308.
- Phillips, J. B., et al. (2013). "Rapid Learning of Magnetic Compass Direction by C57BL/6 Mice in a 4-Armed 'Plus' Water Maze." *PLoS One* 8(8): e73112.
- Prato, F., et al. (1998). "Modulatory actions of light on the behavioural responses to magnetic fields by land snails probably occur at the magnetic field detection stage." *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 265(1394): 367-373.
- Prato, F. S., et al. (2009). "Light alters nociceptive effects of magnetic field shielding in mice: intensity and wavelength considerations." *Journal of The Royal Society Interface* 6(30): 17-28.
- Quinn, T. (1980). "Evidence for celestial and magnetic compass orientation in lake migrating sockeye salmon fry." *Journal of comparative physiology* 137(3): 243-248.
- Ritz, T., et al. (2000). "A Model for Photoreceptor-Based Magnetoreception in Birds." *Biophysical Journal* 78(2): 707-718.
- Ritz, T., et al. (2010). "Photoreceptor-based magnetoreception: optimal design of receptor molecules, cells, and neuronal processing." *Journal of The Royal Society Interface* 7(Suppl 2): S135-S146.
- Ritz, T., et al. (2004). "Resonance effects indicate a radical-pair mechanism for avian magnetic compass." *Nature* 429(6988): 177-180.
- Ritz, T., et al. (2009). "Magnetic compass of birds is based on a molecule with optimal directional sensitivity." *Biophys J* 96(8): 3451-3457.
- Rodgers, C. T. and P. J. Hore (2009). "Chemical magnetoreception in birds: The radical pair mechanism." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(2): 353-360.
- Ryaby, J. T. (1998). "Clinical effects of electromagnetic and electric fields on fracture healing." *Clinical orthopaedics and related research* 355: S205-S215.
- Sauvé, J. (1988). "Analyse de l'orientation initiale dans une expérience de retour au gîte chez le mulot, *Apodemus sylvaticus*." *Sciences et Techniques de l'Animal de Laboratoire* 13: 89-91.
- Semm, P. and R. C. Beason (1990). "Responses to small magnetic variations by the trigeminal system of the bobolink." *Brain Research Bulletin* 25(5): 735-740.

- Schulten, K. (1982). MAGNETIC FIELD EFFECTS IN CHEMISTRY AND BIOLOGY. Festkoerperprobleme.
- Schulten, K., et al. (1976). "Magnetic field dependence of the geminate recombination of radical ion pairs in polar solvents." *Zeitschrift für Physikalische Chemie* 101(1-6): 371-390.
- Schulten, K. and A. Windemuth (1986). "Model for a physiological magnetic compass." *Biophysical effects of steady magnetic fields* 11: 99-106.
- Slaby, P., et al. (2013). "Cattle on pastures do align along the North–South axis, but the alignment depends on herd density." *Journal of Comparative Physiology A* 199(8): 695-701.
- Solov'yov, I. A. and W. Greiner (2007). "Theoretical analysis of an iron mineral-based magnetoreceptor model in birds." *Biophysical Journal* 93(5): 1493-1509.
- Stoneham, A. M., et al. (2012). "A New Type of Radical-Pair-Based Model for Magnetoreception." *Biophysical Journal* 102(5): 961-968.
- Stuchlik, A., et al. (2001). "Substratal idiothetic navigation of rats is impaired by removal or devaluation of extramaze and intramaze cues." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(6): 3537-3542.
- Tian, L., et al. (2010). "Bat head contains soft magnetic particles: Evidence from magnetism." *Bioelectromagnetics* 31(7): 499-503.
- Treiber, C. D., et al. (2012). "Clusters of iron-rich cells in the upper beak of pigeons are macrophages not magnetosensitive neurons." *Nature* 484(7394): 367-370.
- Tchernichovski, O. and I. Golani (1995). "A phase plane representation of rat exploratory behavior." *Journal of neuroscience methods* 62(1): 21-27.
- Tryon, V. L., E. U. Kim, T. J. Zafar, A. M. Unruh, S. R. Staley and J. L. Calton (2012). "Magnetic field polarity fails to influence the directional signal carried by the head direction cell network and the behavior of rats in a task requiring magnetic field orientation." *Behavioral neuroscience* 126(6): 835.
- Vanderstraeten, J. and H. Burda (2012). "Does magnetoreception mediate biological effects of power-frequency magnetic fields?" *Science of The Total Environment* 417–418(0): 299-304.
- Vácha, M., et al. (2008). "Tenebrio beetles use magnetic inclination compass." *Naturwissenschaften* 95(8): 761-765.
- Vacha, M., et al. (2009). "Radio frequency magnetic fields disrupt magnetoreception in American cockroach." *Journal of Experimental Biology* 212(21): 3473-3477.
- Vácha, M. and H. Soukopová (2004). "Magnetic orientation in the mealworm beetle *Tenebrio* and the effect of light." *Journal of Experimental Biology* 207(7): 1241-1248.
- Vanderstraeten, J. and H. Burda (2012). "Does magnetoreception mediate biological effects of power-frequency magnetic fields?" *Science of The Total Environment* 417–418(0): 299-304.

- Vanderstraeten, J., et al. (2012). "Health effects of extremely low -frequency magnetic fields: reconsidering the melatonin hypothesis in the light of current data on magnetoreception." *Journal of applied toxicology* 32(12): 952-958.
- Wajnberg, E., et al. (2010). "Magnetoreception in eusocial insects: an update." *Journal of The Royal Society Interface* 7(Suppl 2): S207-S225.
- Walcott, C., et al. (1979). "Pigeons have magnets." *Science* 205(4410): 1027-1029.
- Walcott, C. and R. P. Green (1974). "Orientation of homing pigeons altered by a change in the direction of an applied magnetic field." *Science* 184(4133): 180-182.
- Walcott, C. and K. Schmidt-Koenig (1973). "The effect on pigeon homing of anesthesia during displacement." *The Auk*: 281-286.
- Walker, M. M., et al. (2002). "The magnetic sense and its use in long-distance navigation by animals." *Current Opinion in Neurobiology* 12(6): 735-744.
- Walker, M. M., et al. (1997). "Structure and function of the vertebrate magnetic sense." *Nature* 390(6658): 371-376.
- Walker, M. M., et al. (1992). "Evidence that fin whales respond to the geomagnetic field during migration." *Journal of Experimental Biology* 171(1): 67-78.
- Walker, M. M., et al. (1984). "A candidate magnetic sense organ in the yellowfin tuna, *Thunnus albacares*." *Science* 224(4650): 751-753.
- Walker, M. M., et al. (1988). "Production of single-domain magnetite throughout life by sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*." *J Exp Biol* 140: 51-63.
- Wang, Y., et al. (2007). "Bats respond to polarity of a magnetic field." *Proc Biol Sci* 274(1627): 2901-2905.
- Wegner, R. E., et al. (2006). "Magnetic compass in the cornea: local anaesthesia impairs orientation in a mammal." *Journal of Experimental Biology* 209(23): 4747-4750.
- Williams, M. N. and J. M. Wild (2001). "Trigeminally innervated iron-containing structures in the beak of homing pigeons, and other birds." *Brain Research* 889(1): 243-246.
- Wiltschko, R., et al. (2009). "Directional orientation of birds by the magnetic field under different light conditions." *Journal of The Royal Society Interface*: rsif20090367.
- Wiltschko, R. and W. Wiltschko (1995). "Magnetic orientation in animals."
- Wiltschko, R. and W. Wiltschko (2009). "Avian navigation." *The Auk* 126(4): 717-743.
- Wiltschko, R. and W. Wiltschko (2013). "The magnetite-based receptors in the beak of birds and their role in avian navigation." *Journal of Comparative Physiology A* 199(2): 89-98.
- Wiltschko, W. (1968). "Über den Einfluß statischer Magnetfelder auf die Zugorientierung der Rotkehlchen (*Erithacus rubecula*)." *Zeitschrift für Tierpsychologie* 25(5): 537-558.
- Wiltschko, W. and R. Wiltschko (1972). "Magnetic compass of European robins." *Science* 176(4030): 62-64.

- Wiltschko, W. and R. Wiltschko (2005). "Magnetic orientation and magnetoreception in birds and other animals." *Journal of Comparative Physiology a-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology* 191(8): 675-693.
- Wiltschko, W. a. M., F. (1966). "Orientierung zugunruhiger Rotkehlchen im statischen Magnetfeld." *Verh. dt. Zool. Ges.* 59: 362–367.
- Winklhofer, M., et al. (2001). "Clusters of superparamagnetic magnetite particles in the upper-beak skin of homing pigeons evidence of a magnetoreceptor?" *European Journal of Mineralogy* 13(4): 659-669.
- Winklhofer, M. and J. L. Kirschvink (2010). "A quantitative assessment of torque-transducer models for magnetoreception." *Journal of The Royal Society Interface* 7(Suppl 2): S273-S289.
- Wu, L.-Q. and J. D. Dickman (2011). "Magnetoreception in an Avian Brain in Part Mediated by Inner Ear Lagena." *Current Biology* 21(5): 418-423.
- Wu, L.-Q. and J. D. Dickman (2012). "Neural correlates of a magnetic sense." *Science* 336(6084): 1054-1057.